

DNA-Sequenz und rekombinante Herstellung von Gruppe-4 Majorallergenen aus Getreiden

5

Hintergrund der Erfindung

10

Die vorliegende Erfindung betrifft die Bereitstellung von DNA-Sequenzen von Gruppe-4 Majorallergenen aus Getreiden (*Triticeae*). Die Erfindung schließt auch Fragmente, Neukombinationen von Teilsequenzen und Punktmutanten mit hypoallergener Wirkung ein. Die rekombinanten DNA-Moleküle und die abgeleiteten Polypeptide, Fragmente, Neukombinationen von Teilsequenzen und Varianten können zur Therapie von pollenallergischen Krankheiten genutzt werden. Die rekombinant hergestellten Proteine können zur *In-vitro*- und *In-vivo*-Diagnostik von Pollenallergien eingesetzt werden.

20

Allergien vom Typ 1 haben weltweite Bedeutung. Bis zu 20 % der Bevölkerung in industrialisierten Ländern leiden unter Beschwerden wie allergischer Rhinitis, Konjunktivitis oder Bronchialasthma. Diese Allergien werden durch in der Luft befindliche Allergene (Aeroallergene), die von Quellen unterschiedlicher Herkunft wie Pflanzenpollen, Milben, Katzen oder Hunden freigesetzt werden, hervorgerufen. Bis zu 40 % dieser Typ 1-Allergiker wiederum zeigen spezifische IgE-Reaktivität mit Gräserpollenallergenen, unter anderem Getreidepollenallergenen (Freidhoff et al., 1986, J. Allergy Clin. Immunol. 78, 1190-2001). Eine besondere Bedeutung unter den Getreidepollenallergenen besitzen die Allergene von Roggen.

25

30

35

Bei den Typ 1-Allergie auslösenden Substanzen handelt es sich um Proteine, Glykoproteine oder Polypeptide. Diese Allergene reagieren nach Aufnahme über die Schleimhäute mit den bei sensibilisierten Personen an der

Oberfläche von Mastzellen gebundenen IgE-Molekülen. Werden zwei IgE-Moleküle durch ein Allergen miteinander vernetzt, führt dies zur Ausschüttung von Mediatoren (z. B. Histamin, Prostaglandine) und Zytokinen durch die Effektorzelle und damit zu den entsprechenden klinischen Symptomen.

5

In Abhängigkeit von der relativen Häufigkeit mit der die einzelnen Allergenmoleküle mit den IgE-Antikörpern von Allergikern reagieren, wird zwischen Major- und Minorallergenen unterschieden.

10

Die Allergene aus den Pollen von verschiedenen Spezies aus der Familie der Gräser (*Poaceae*) werden in Gruppen eingeteilt, die untereinander homolog sind.

15

Insbesondere die Moleküle der Majorallergengruppe 4 weisen untereinander eine hohe immunologische Kreuzreaktivität sowohl mit monoklonalen Mausantikörpern als auch mit humanen IgE-Antikörpern auf (Fahlbusch et al., 1993 Clin. Exp. Allergy 23:51-60; Leduc-Brodard et al., 1996, J. Allergy Clin. Immunol. 98:1065-1072; Su et al., 1996, J. Allergy Clin. Immunol.

20

97:210; Fahlbusch et al., 1998, Clin. Exp. Allergy 28:799-807; Gavrovic-Jankulovic et al., 2000, Invest. Allergol. Clin. Immunol. 10 (6):361-367; Stumvoll et al. 2002, Biol. Chem. 383:1383-1396; Grote et al., 2002, Biol. Chem. 383:1441-1445; Andersson und Lidholm, 2003, Int. Arch. Allergy Immunol. 130:87-107; Mari, 2003, Clin. Exp. Allergy, 33 (1):43-51).

25

Von keinem der Gruppe-4-Majorallergene ist bisher eine vollständige DNA-Sequenz bekannt.

30

Von dem Gruppe-4 Allergen aus *Dactylus glomerata* sind bisher lediglich Peptide durch enzymatischen Abbau gewonnen und sequenziert worden:

DIYNYMEPYVSK (SEQ ID NO 13),

VDPTDYFGNEQ (SEQ ID NO 14),

35

ARTAWVDSGAQLGELSY (SEQ ID NO 15)

und GVLFNIIQYVNYWFAP (SEQ ID NO 16, Leduc-Brodard et al., 1996, J. Allergy Clin. Immunol. 98: 1065-1072).

Auch vom Gruppe-4 Allergen des subtropischen Bermuda-Grases (*Cynodon dactylon*) sind durch Proteolyse Peptide erhalten und sequenziert worden:

KTVKPLYIITP (SEQ ID NO 17),

KQVERDFLTSLTKDIPQLYLKS (SEQ ID NO 18),

TVKPLYIITPITAAMI (SEQ ID NO 19),

LRKYGTAADNVIDAKVVDAQGRLL (SEQ ID NO 20),

KWQTVAPALPDPNM (SEQ ID NO 21),

VTWIESVPYIPMGDK (SEQ ID NO 22),

GTVRDLLXRTSNIKAFGKY (SEQ ID NO 23),

TSNIKAFGKYKSDYVLEPIPKKS (SEQ ID NO 24),

YRDLDLGVNQVVG (SEQ ID NO 25),

SATPPTHRSGLVFNII (SEQ ID NO 26),

und AAAALPTQVTRDIYAFMTPYVSKNPRQAYVNYRDL (SEQ ID NO 27,

Liaw et al., 2001, Biochem. Biophys. Research Communication 280: 738-743).

Für *Lolium perenne* wurden für das basische Gruppe-4 Allergen Peptidfragmente mit den folgenden Sequenzen beschrieben: FLEPVLGLIFPAGV (SEQ ID NO 28) und GLIEFPAGV (SEQ ID NO 29, Jaggi et al., 1989, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 89: 342-348).

Als erste Sequenz eines Allergens der Gruppe 4 wurde von den Erfindern der vorliegenden Patentanmeldung die noch unveröffentlichte Sequenz des Phl p 4 aus *Phleum pratense* aufgeklärt (SEQ ID NO 11) und in der internationalen Anmeldung WO 04/000881 beschrieben.

Über die Sequenzen der Gruppe-4-Majorallergene aus Getreiden (*Triceae*) ist bisher nichts bekannt.

Die der vorliegenden Erfindung zugrunde liegende Aufgabe bestand daher in der Bereitstellung von DNA-Sequenzen von Gruppe-4 Majorallergenen aus Getreiden, insbesondere des Allergens Sec c 4 aus Roggen (*Secale*
5 *cerales*) (SEQ ID NO 1, 3), Hor v 4 aus Gerste (*Hordeum vulgare*) (SEQ ID NO 5) und Tri a 4 aus Weizen (*Triticum aestivum*) (SEQ ID NO 7, 9) sowie von entsprechenden rekombinanten DNA-Molekülen, auf deren Grundlage die Allergene als Protein exprimiert und einer pharmakologisch bedeutsamen Verwertung als solches oder in veränderter Form zugänglich gemacht werden kann. Die Sequenz des Phl p 4 (SEQ ID NO 11) war Ausgangspunkt für die vorliegende Erfindung.

15

Verzeichnis der erfindungsgemäßen Sequenzen

20

Den DNA- und Protein-Sequenzen der reifen Allergene gemäß SEQ ID NO 1-10 geht eine Signalsequenz voraus. Mit den TGA oder TAG Stopcodons in den DNA-Sequenzen endet der kodierende Bereich.

25

- DNA-Sequenz des Sec c 4. (a) Isoform Sec c 4.01 (SEQ ID NO 1), (b) Isoform Sec c 4.02 (SEQ ID NO 3).

- Von den DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO 1 und 3 abgeleitete Protein-Sequenzen (SEQ ID NO 2, 4).

- DNA-Sequenz des Hor v 4 (SEQ ID NO 5).

- Von der DNA-Sequenz gemäß SEQ ID NO 5 abgeleitete Protein-Sequenz (SEQ ID NO 6).

30

- DNA-Sequenz des Tri a 4. (a) Isoform Tri a 4.01 (SEQ ID NO 7), (b) Isoform Tri a 4.02 (SEQ ID NO 9).

- Von den DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO 7 und 9 abgeleitete Protein-Sequenzen (SEQ ID NO 8, 10).

35

- DNA-Sequenz des Phl p 4 (SEQ ID NO 11), gemäß SEQ ID NO 5 aus der WO 04/000881.

- Proteinsequenz des Phl p 4 (SEQ ID NO 12), gemäß SEQ ID NO 6 aus der WO 04/000881.

5

Beschreibung der Erfindung

10 Mit der vorliegenden Erfindung werden nun erstmals DNA-Sequenzen der Getreidepollenhauptallergene Sec c 4, Hor v 4 und Tri a 4, gemäß SEQ ID NO 1, 3, 5, 7, und 9, bereit gestellt.

15 Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher DNA-Moleküle ausgewählt aus den Nukleotidsequenzen gemäß SEQ ID NO 1, 3, 5, 7, und 9.

20 Die Erfindung betrifft weiterhin zu den erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen homologe Sequenzen bzw. entsprechende DNA-Moleküle von Gruppe-4-Allergenen aus anderen *Poaceae* wie beispielsweise *Lolium perenne*, *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*, *Cynodon dactylon* und *Holcus lanatus*, die aufgrund der bestehenden Sequenzhomologie mit den erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen unter stringenten Bedingungen hybridisieren, bzw. bezüglich der erfindungsgemäßen Allergene eine immunologische Kreuzreaktivität aufweisen.

25 Die Erfindung schließt dabei auch Fragmente, Neukombinationen von Teilsequenzen und Punktmutanten mit hypoallergener Wirkung ein.

30 Gegenstand der Erfindung sind daher weiterhin entsprechende Teilsequenzen, einer Kombination von Teilsequenzen bzw. Austausch-, Eliminierungs- oder Additionsmutanten, welche für ein immunmodulatorisches, T-Zell-reaktives Fragment eines Gruppe-4-Allergens der *Poaceae* kodieren.

35

Mit der Kenntnis der DNA-Sequenz der natürlich vorkommenden Allergene ist es nun möglich, diese Allergene als rekombinante Proteine herzustellen, die in der Diagnostik und Therapie von allergischen Erkrankungen Verwendung finden können (Scheiner and Kraft, 1995, *Allergy* 50: 384-391).

5

Ein klassischer Ansatz zur wirksamen therapeutischen Behandlung von Allergien stellt die Spezifische Immuntherapie oder Hyposensibilisierung dar (Fiebig, 1995, *Allergo J.* 4 (6): 336-339, Bousquet et al., 1998, *J. Allergy Clin. Immunol.* 102(4): 558-562). Dabei werden dem Patienten natürliche Allergenextrakte in steigenden Dosen subkutan injiziert. Allerdings besteht bei dieser Methode die Gefahr von allergischen Reaktionen oder sogar eines anaphylaktischen Schocks. Um diese Risiken zu minimieren, werden innovative Präparate in Form von Allergoiden eingesetzt. Dabei handelt es sich um chemisch modifizierte Allergenextrakte, die deutlich reduzierte IgE-Reaktivität, jedoch identische T-Zell-Reaktivität im Vergleich zum nicht behandelten Extrakt aufweisen (Fiebig, 1995, *Allergo J.* 4 (7): 377-382).

10

15

20

25

Eine noch weitergehende Therapieoptimierung wäre mit rekombinant hergestellten Allergenen möglich. Definierte, ggfs. auf die individuellen Sensibilisierungsmuster der Patienten abgestimmte Cocktails von hochreinen, rekombinant hergestellten Allergenen könnten Extrakte aus natürlichen Allergenquellen ablösen, da diese außer den verschiedenen Allergenen eine größere Zahl von immunogenen, aber nicht allergenen Begleitproteinen enthalten.

30

Realistische Perspektiven, die zu einer sicheren Hyposensibilisierung mit Expressionsprodukten führen können, bieten gezielt mutierte rekombinante Allergene, bei denen IgE-Epitope spezifisch deletiert werden, ohne die für die Therapie essentiellen T-Zell Epitope zu beeinträchtigen (Schramm et al., 1999, *J. Immunol.* 162: 2406-2414).

35

Eine weitere Möglichkeit zur therapeutischen Beeinflussung des gestörten TH-Zell-Gleichgewichtes bei Allergikern ist die immuntherapeutische DNA-Vakzinierung. Dabei handelt es sich um eine Behandlung mit expressions-

fähiger DNA, die für die relevanten Allergene kodiert. Erste experimentelle Belege für die allergenspezifische Beeinflussung der Immunantwort konnte an Nagern durch Injektion von Allergen-kodierender DNA erbracht werden (Hsu et al., 1996, Nature Medicine 2 (5): 540-544).

5

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher auch ein vor- oder nachstehend beschriebenes DNA-Molekül bzw. ein entsprechender rekombinanter Expressionsvektor als Arzneimittel.

10

Die entsprechenden rekombinant hergestellten Proteine können zur Therapie sowie zur *in vitro*- und *in vivo*-Diagnostik von Pollenallergien eingesetzt werden.

15

Zur Herstellung des rekombinanten Allergens wird die klonierte Nukleinsäure in einen Expressionsvektor ligiert und dieses Konstrukt in einem geeigneten Wirtsorganismus exprimiert. Nach biochemischer Reinigung steht dieses rekombinante Allergen zur Detektion von IgE-Antikörpern in etablierten Verfahren zur Verfügung.

20

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher weiterhin ein rekombinanter Expressionsvektor, enthaltend ein vor- oder nachstehend beschriebenes DNA-Molekül, funktionell verbunden mit einer Expressionskontrollsequenz und ein Wirtsorganismus, transformiert mit besagtem DNA-Molekül oder besagtem Expressionsvektor.

25

Ebenfalls erfindungsgegenständlich ist die Verwendung mindestens eines zuvor beschriebenen DNA-Moleküls oder mindestens eines zuvor beschriebenen Expressionsvektors zur Herstellung eines Arzneimittels zur immuntherapeutischen DNA-Vakzinierung von Patienten mit Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae*, vorzugsweise *Triticeae*, insbesondere Sec c 4, Hor v 4, Tri a 4, beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.

30
35

Wie bereits ausgeführt kann die Erfindung als eine essentielle Komponente in einem rekombinanten allergen- oder nukleinsäurehaltigen Präparat zur spezifischen Immuntherapie angewendet werden. Hierbei bieten sich mehrere Möglichkeiten. Zum einen kann das in der Primärstruktur unveränderte Protein Bestandteil des Präparates sein. Zum anderen kann durch gezielte Deletion von IgE-Epitopen des Gesamtmoleküls oder der Herstellung von einzelnen Fragmenten, die für T-Zell Epitope kodieren, erfindungsgemäß eine hypoallergene (allergoide) Form zur Therapie verwendet werden, um unerwünschte Nebenwirkungen zu vermeiden. Schließlich wird durch die Nukleinsäure an sich, wenn sie mit einem eukaryontischen Expressionsvektor ligiert wird, ein Präparat geschaffen, das direkt appliziert den allergischen Immunzustand im therapeutischen Sinne verändert.

Desweiteren handelt es sich bei der vorliegenden Erfindung um die von einem oder mehreren der zuvor beschriebenen DNA-Moleküle kodierten Polypeptide, vorzugsweise in ihrer Eigenschaft als Arzneimittel. Dabei handelt es sich um Proteine entsprechend einer Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO 2, 4, 6, 8, oder 10. Insbesondere handelt es sich um die reifen Proteine (ohne Signalsequenzanteil), beginnend mit der Aminosäure 23 (SEQ ID NO 2, 4 und 6) und mit der Aminosäure 22 (SEQ ID NO 8, 10). Weiterhin betrifft die Erfindung Proteine, welche diese Aminosäuresequenzen oder Teile dieser Sequenzen enthalten,

Die Erfindung betrifft demgemäß auch ein Verfahren zur Herstellung solcher Polypeptide durch Kultivieren eines Wirtsorganismus und Gewinnung des entsprechenden Polypeptids aus der Kultur.

Ebenfalls erfindungsgegenständlich ist die Verwendung mindestens eines zuvor beschriebenen Polypeptides zur Herstellung eines Arzneimittels zur Diagnose und/oder Behandlung von Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae*, vorzugsweise *Triticeae*, insbesondere

Sec c 4, Hor v 4, Tri a 4, beteiligt sind sowie zur Prävention solcher Allergien.

5 Bei der Ermittlung der erfindungsgemäßen Protein- und DNA-Sequenzen wurde wie folgt vorgegangen:

Sec c 4 aus Roggen

10

1. Ausgehend von der DNA-Sequenz des Phl p 4 (SEQ ID NO 12, WO 04/000881) wurden spezifische Primer (Tab. 1) generiert, die von der Phl p 4 Sequenz abgeleitet wurden. Durch PCR mit den Primern #87 und #83 konnten fünf Klone aus Roggenpollen DNA gewonnen werden. Das diesen Klonen entsprechende, amplifizierte Sec c 4-Genfragment-1 kodiert für ein den Aminosäuren 68-401 des Phl p 4 (SEQ ID NO 12) entsprechendes Polypeptid.

15

2. Mit der partiellen Sec c 4-Sequenz wurde eine EST-Datenbankrecherche durchgeführt. Es konnten jedoch keine homologen Sequenzen in auf Roggen spezialisierte EST-Datenbanken gefunden werden. Statt dessen wurden einzelne, homologe, nicht überlappende EST-Fragmente in auf Gerste und Weizen spezialisierten EST-Datenbanken gefunden. Einzelne EST-Fragmente reichen in den 5'-UTR, andere in den 3'-UTR Bereich (UTR = nicht-translatierter Bereich) der entsprechenden Gene hinein.

20

25

3. Aus den in den Datenbanken gefundenen EST-Sequenzen lässt sich jedoch kein komplettes Gruppe-4-Gen aus Weizen oder Gerste konstruieren, da diese Sequenzen nicht überlappen und kein homologes Gruppe-4-Gen bekannt ist. Anhand der Phl p 4-Sequenz (SEQ ID NO 11) und des in Schritt 1 erhaltenen Sec c 4-Fragmentes konnten diese EST-Sequenzen jedoch zugeordnet werden und dienten als Vorlage für die Herstellung von PCR-Primern.

30

35

5 4. Mit Hilfe der so hergestellten Primer #195 und #189 konnten drei Klone durch PCR erhalten werden. Der Primer #195 wurde aus einer Gerste-EST-Sequenz abgeleitet, der Primer #189 ist ein Phl p 4-spezifischer Primer und überlappt das Phl p 4-Stoppcodon sowie die Codons der 10.C-terminalen Phl p 4-Aminosäuren. Das so amplifizierte Sec c 4-Genfragment-2 kodiert für ein Polypeptid, beginnend innerhalb der Signalsequenz und endend mit der Position, die der Position 490 des Phl p 4 entspricht. Dieses Polypeptid deckt den N-Terminus von Sec c 4 ab.

15 5a. Drei weitere Klone wurden durch PCR mit den Primern #195 und #202 erhalten. Beide Primer wurden aus Gerste EST-Sequenzen abgeleitet. Das amplifizierte Sec c 4-Gen-3 kodiert für die korrespondierenden Aminosäuren beginnend innerhalb der Signalsequenz und endend am C-Terminus von Sec c 4.
Die komplette Sequenz des reifen Sec c 4 ist somit in der bestimmten Sequenz enthalten.

20 Die beiden nächsten Schritte 5b und 5c dienen der Absicherung des im Schritt 5a erhaltenen Ergebnisses:

25 5b. Ein weiterer Klon wurde durch PCR mit den Primern #195 und #203 erhalten. Primer #195 wurde von einer Gerste EST-Sequenz abgeleitet, Primer #203 von einer Weizen EST Sequenz. Das amplifizierte Sec c 4 Gen kodiert für die korrespondierenden Aminosäuren beginnend innerhalb der Signalsequenz und endend am C-Terminus von Sec c 4. Die komplette Sequenz des reifen Sec c 4 ist daher in der bestimmten Sequenz enthalten.

35 5c. Ein weiterer Klon wurde durch PCR mit den Primern #195 und #198 erhalten. Auch Primer #198 Das amplifizierte Sec c 4 Gen kodiert für die korrespondierenden Aminosäuren beginnend innerhalb der Signalsequenz

und endend am C-Terminus von Sec c 4. Die komplette Sequenz des reifen Sec c 4 ist daher in der bestimmten Sequenz enthalten.

5 Es wurden zwei Isoformen Sec c 4.01 und 4.02 aufgefunden. Die reifen Allergene beginnen mit der Aminosäure 23 der Sequenzen gemäß SEQ ID NO 2, 4, und 6.

Hor v 4 aus Gerste

10 Mit Hilfe der wie zuvor beschrieben erhaltenen Sec c 4-Sequenzen konnten in EST-Datenbanken von *Hordeum vulgare* homologe EST-Fragmente gefunden wurde. Diese Fragmente überlappen jedoch nicht zu einem kompletten Gen. Anhand der gefundenen EST-Sequenzen konnten jedoch
15 Hor v 4-spezifische Primer generiert werden, die für eine Amplifikation des Hor v 4-Gens aus genomischer DNA verwendet wurden.

20 Insgesamt wurden 15 Klone analysiert.
4 Klone wurden durch PCR mit den Primern #195 und #198 erhalten.
4 Klone wurden durch PCR mit den Primern #195 und #202 erhalten.
3 Klone wurden durch PCR mit den Primern #194 und #198 erhalten.
4 Klone wurden durch PCR mit den Primern #194 und #202 erhalten.

25 Die abgeleitete Proteinsequenz beginnt innerhalb der Signalsequenz von Hor v 4 und reicht bis zum C-terminalen Ende des Proteins (ab Aminosäure 23 von SEQ ID NO 6).

30 Tri a 4 aus Weizen

35 Mit Hilfe der wie zuvor beschrieben erhaltenen Sec c 4-Sequenz konnten in EST-Datenbanken von *Triticum aestivum* homologe EST-Fragmente gefunden wurde. Diese Fragmente überlappen jedoch nicht zu einem kompletten Gen. Anhand der gefundenen EST-Sequenzen konnten jedoch die

Tri a 4-spezifische Primer #199, #203, #204 und #206 generiert werden, die für eine Amplifikation des Tri a 4 Gens aus genomischer DNA verwendet wurden.

5 Insgesamt wurden 13 Klone analysiert.

4 Klone wurden durch PCR mit den Primern #204 und #203 erhalten.

4 Klone wurden durch PCR mit den Primern #204 und #199 erhalten.

3 Klone wurden durch PCR mit den Primern #206 und #203 erhalten.

10 4 Klone wurden durch PCR mit den Primern #206 und #199 erhalten.

Die abgeleiteten Proteinsequenzen beginnen innerhalb der Signalsequenz von Tri a 4 und reichen bis zum C-terminalen Ende des Proteins.

15 Es wurden zwei Varianten Tri a 4.01 (ab Aminosäure 22 von SEQ ID NO 8) und Tri a 4.02 (ab Aminosäure 22 von SEQ ID NO 10) aufgefunden.

20 Zur Herstellung der rekombinanten erfindungsgemäßen Allergene wurden die DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO 1, 3, 5, 7 und 9 in Expressionsvektoren (z.B. pProEx, pSE 380) eingebaut. Für die aus der Proteinsequenzierung bekannten N-terminalen Aminosäuren wurden *E. coli* optimierte Codons verwendet.

25 Nach der Transformation in *E. coli*, der Expression und der Reinigung des rekombinanten erfindungsgemäßen Allergene durch verschiedene Trenntechniken wurde die erhaltenen Proteine einem Refoldingprozess unterworfen.

30 Beide Allergene können zur hochspezifischen Diagnostik von Graspollenallergien eingesetzt werden. Diese Diagnostik kann *in vitro* durch die Detektion von spezifischen Antikörpern (IgE, IgG1 - 4, IgA) und die Reaktion mit IgE-beladenen Effektorzellen (z. B. Basophile aus dem Blut) oder *in vivo*
35 durch Hauttest-Reaktionen und Provokation am Reaktionsorgan erfolgen.

5 Die Reaktion der erfindungsgemäßen Allergene mit T-Lymphozyten von Graspollenallergikern können durch die allergenspezifische Stimulierung der T-Lymphozyten zur Proliferation und Zytokinsynthese sowohl mit T-Zellen in frisch präparierten Blutlymphozyten als auch an etablierten nSec c 4, nHor v 4 bzw. nTri a 4-reaktiven T-Zell-Linien und -Klonen nachgewiesen werden.

10 Durch ortsgerichtete Mutagenese wurden die für die Cysteine kodierenden Tripletts so verändert, dass sie für andere Aminosäuren, bevorzugt Serin, kodieren. Es wurden sowohl Varianten hergestellt, bei denen einzelne Cysteine ausgetauscht wurden, als auch solche, bei denen verschiedene
15 Kombinationen von 2 Cysteinresten bzw. alle Cysteine verändert wurden. Die exprimierten Proteine dieser Cysteinpunktmutanten weisen eine stark reduzierte bzw. fehlende Reaktivität mit IgE-Antikörpern von Allergikern auf, reagieren jedoch mit den T-Lymphozythen dieser Patienten.

20 Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher weiterhin ein vor- oder nachstehend beschriebenes DNA-Molekül, bei dem durch ortsgerichtete Mutagenese einer, mehrere oder alle der Cystein-Reste des entsprechenden Polypeptids gegen eine andere Aminosäure ausgetauscht wurden.

25 Die immunmodulatorische Aktivität von hypoallergenischen Fragmenten, die Polypeptiden mit T-Zell-Epitopen entsprechen, sowie die der hypoallergenischen Punktmutanten (z.B. Cystein-Austausche) kann durch ihre Reaktion mit T-Zellen von Graspollenallergikern nachgewiesen werden.
30

Solche hypoallergenischen Fragmente bzw. Punktmutanten der Cysteine können als Präparate zur Hyposensibilisierung von Allergikern eingesetzt werden, da sie mit gleicher Effektivität mit den T-Zellen reagieren, jedoch aufgrund der verminderten oder ganz fehlenden IgE-Reaktivität zu geringeren
35 IgE-vermittelten Nebenwirkungen führen.

5 Werden die für die erfindungsgemäßen hypoallergenischen Allergen-Varianten kodierenden Nukleinsäuren oder die unveränderten erfindungsgemäßen DNA-Moleküle mit einem humanen Expressionsvektor ligiert, können diese Konstrukte ebenfalls als Präparate für eine Immuntherapie (DNA-Vakzinierung) angewendet werden.

10 Schließlich sind Gegenstand der vorliegenden Erfindung pharmazeutische Zubereitungen, enthaltend mindestens ein zuvor beschriebenes DNA-Molekül oder mindestens einen zuvor beschriebenen Expressionsvektor und gegebenenfalls weitere Wirk- und/oder Hilfsstoffe zur immuntherapeutischen DNA-Vakzinierung von Patienten mit Allergien, an deren Auslösung
15 Gruppe-4-Allergene der *Poaceae*, vorzugsweise *Triticeae*, insbesondere Sec c 4, Hor v 4, Tri a 4, beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.

20 Eine weitere Gruppe von erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitungen enthält anstelle der DNA mindestens ein zuvor beschriebenes Polypeptid und eignet sich zur Diagnose und/oder Behandlung besagter Allergien.

25 Pharmazeutische Zubereitungen im Sinne der vorliegenden Erfindung enthaltend als Wirkstoffe ein erfindungsgemäßes Polypeptid oder einen Expressionsvektor und/oder deren jeweilige pharmazeutisch verwendbaren Derivate, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen. Hierbei
30 können die erfindungsgemäßen Wirkstoffe zusammen mit mindestens einem festen, flüssigen und/oder halbflüssigen Träger- oder Hilfsstoff und gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Wirkstoffen in eine geeignete Dosierungsform gebracht werden.

35 Als Hilfsstoffe sind immunstimulierende DNA oder Oligonukleotide mit CpG-Motiven besonders geeignet.

Diese Zubereitungen können als Therapeutika oder Diagnostika in der Human- oder Veterinärmedizin verwendet werden. Als Trägerstoffe kommen organische oder anorganische Substanzen in Frage, die sich für die parenterale Applikation eignen und die Wirkung des erfindungsgemäßen Wirkstoffs nicht negativ beeinflussen. Zur parenteralen Anwendung dienen insbesondere Lösungen, vorzugsweise ölige oder wässrige Lösungen, ferner Suspensionen, Emulsionen oder Implantate. Der erfindungsgemäße Wirkstoff kann auch lyophilisiert und die erhaltenen Lyophilisate z.B. zur Herstellung von Injektionspräparaten verwendet werden. Die angegebenen Zubereitungen können sterilisiert sein und/oder Hilfsstoffe wie Konservierungs-, Stabilisierungs- und/oder Netzmittel, Emulgatoren, Salze zur Beeinflussung des osmotischen Druckes, Puffersubstanzen und/oder mehrere weitere Wirkstoffe enthalten.

Weiterhin können durch entsprechende Formulierung des erfindungsgemäßen Wirkstoffs Depotpräparate - zum Beispiel durch Adsorption an Aluminiumhydroxid - erhalten werden.

Die Erfindung dient somit auch zur Verbesserung der *in vitro* Diagnostik im Rahmen einer Allergen-Komponenten auflösenden Identifizierung des patientenspezifischen Sensibilisierungsspektrums. Die Erfindung dient ebenfalls zur Herstellung von deutlich verbesserten Präparaten zur spezifischen Immuntherapie von Gräserpollenallergien.

Tabelle 1 Verwendete Primer

a) Sec c 4

| Primer nummer | SEQ ID NO | Sequenz |
|---------------|-----------|---|
| #0083 | 30 | GGCTCCCGGGGCGAACCAGTAG |
| #0087 | 31 | ACCAACGCCTCCCACATCCAGTC |
| #0189 | 32 | GATAAGCTTCTCGAGTGATTAGTACTTTTGTATC AGCGGCGGGATGCTC |

| | | |
|-------|----|--------------------------------|
| #0195 | 33 | GCTCTCGATCGGCTACAATGGCG |
| #0198 | 34 | CACGCACTACAAATCTCCATGCAAG |
| #0202 | 35 | CATGCTTGATCCTTATTCTACTAGTTGGGC |
| #0203 | 36 | TACGCACGATCCTTATTCTACTAGTTGGGC |

5

a) Hor v 4

10

| Primer num- mer | SEQ ID NO | Sequenz |
|-----------------------|-----------|--------------------------------|
| #0194 | 37 | GCCTTGTCTGCCACACGCCGCCGCCACC |
| #0195 | 38 | GCTCTCGATCGGCTACAATGGCG |
| #0198 | 39 | CACGCACTACAAATCTCCATGCAAG |
| #0202 | 40 | CATGCTTGATCCTTATTCTACTAGTTGGGC |

15

c) Tri a 4

20

| Primer num- mer | SEQ ID NO | Sequenz |
|-----------------------|-----------|--------------------------------|
| #0199 | 41 | CACGCACTAAATCTCCATGCAAG |
| #0203 | 42 | TACGCACGATCCTTATTCTACTAGTTGGGC |
| #0204 | 43 | AAGCTCTATCGCCTACAATGGCG |
| #0206 | 44 | GGTGCTCCTCTTCTGCGCCTTGTC |

25

30

35

Patentansprüche

- 5 1. Ein DNA-Molekül entsprechend einer Nukleotidsequenz eines Getreidepollenhauptallergens, ausgewählt aus einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO 1, 3, 5, 7, und 9.
- 10 2. Ein DNA-Molekül, das mit einem DNA-Molekül gemäß Anspruch 1 unter stringenten Bedingungen hybridisiert und von DNA-Sequenzen von *Poaceae*-Spezies abstammt.
- 15 3. Ein DNA-Molekül, kodierend für ein Polypeptid, welches mit den Majorallergenen Sec c 4, Hor v 4 oder Tri a 4 aus *Secale cereale*, *Hordeum vulgare* beziehungsweise *Triticum aestivum* immunologisch kreuzreagiert, und von DNA-Sequenzen von *Poaceae*-Spezies abstammt.
- 20 4. Ein DNA-Molekül, entsprechend einer Teilsequenz oder einer Kombination von Teilsequenzen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, welches für ein immunmodulatorisches, T-Zell-reaktives Fragment eines Gruppe-4-*Poaceae*-Allergens kodiert.
- 25 5. Ein DNA-Molekül, entsprechend einer Nukleotidsequenz gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, kodierend für ein immunmodulatorisches T-Zell reaktives Fragment, dadurch gekennzeichnet, daß besagte Nukleotidsequenz durch gezielte Mutation einzelner Codons, Eliminierung oder Addition gezielt verändert wurde.
- 30 6. Ein DNA-Molekül gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die besagte Mutation zum Austausch eines, mehrerer oder aller Cysteine des entsprechenden Polypeptids gegen eine andere Aminosäure führt.

- 5 7. Ein rekombinanter DNA-Expressionsvektor oder ein Klonierungssystem, enthaltend ein DNA-Molekül gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, funktionell verbunden mit einer Expressionskontrollsequenz.
- 10 8. Ein Wirtsorganismus, transformiert mit einem DNA-Molekül gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6 oder einem Expressionsvektor gemäß Anspruch 7.
- 15 9. Ein Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids, kodiert durch eine DNA-Sequenz gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, durch Kultivieren eines Wirtsorganismus gemäß Anspruch 8 und Gewinnung des entsprechenden Polypeptids aus der Kultur.
- 20 10. Ein Polypeptid entsprechend einer der Aminosäuresequenzen gemäß SEQ ID NO 2, 4, 6, 8, und 10, welches von einer DNA-Sequenz gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6 kodiert wird.
- 25 11. Ein Polypeptid entsprechend dem reifen Allergen der Aminosäuresequenzen gemäß Anspruch 10, ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Aminosäuresequenzen
- eine der Aminosäuresequenzen gemäß SEQ ID NO 2, 4, oder 6, beginnend mit der Aminosäure 23,
 - eine der Aminosäuresequenzen gemäß SEQ ID NO 8 oder 10, beginnend mit der Aminosäure 22.
- 30 12. Ein Polypeptid gemäß Anspruch 10 oder 11 als Arzneimittel.
- 35 13. Eine pharmazeutische Zubereitung, enthaltend mindestens ein Polypeptid gemäß Anspruch 12 und gegebenenfalls weitere Wirk- und/oder Hilfsstoffe zur Diagnose und/oder Behandlung von Allergien, an deren

Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind.

- 5 14. Verwendung mindestens eines Polypeptids gemäß Anspruch 12 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Diagnose und/oder Behandlung von Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.
- 10 15. Ein DNA-Molekül gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6 als Arzneimittel.
- 15 16. Ein rekombinanter Expressionsvektor gemäß Anspruch 7 als Arzneimittel.
- 20 17. Eine pharmazeutische Zubereitung, enthaltend mindestens ein DNA-Molekül gemäß Anspruch 15 oder mindestens einen Expressionsvektor gemäß Anspruch 16 und gegebenenfalls weitere Wirk- und/oder Hilfsstoffe zur immuntherapeutischen DNA-Vakzinierung von Patienten mit Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.
- 25 18. Verwendung mindestens eines DNA-Moleküls gemäß Anspruch 15 oder mindestens eines Expressionsvektors gemäß Anspruch 16 zur Herstellung eines Arzneimittels zur immuntherapeutischen DNA-Vakzinierung von Patienten mit Allergien, an deren Auslösung Gruppe-4-Allergene der *Poaceae* beteiligt sind und/oder zur Prävention solcher Allergien.

30

35

Sequenz-Protokoll

<110> Merck Patent GmbH

<120> DNA-Sequenz und rekombinante Herstellung von Gruppe-4 Majoraller-
genen aus Getreiden

<130> P 03/239

<140> DE 10359351.9

<141> 2003-12-16

<160> 44

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1603

<212> DNA

<213> Sec c 4

<220>

<221> stop_codon

<222> (1555) .. (1557)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_DNA

<222> (1) .. (66)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_PROT

<222> (1)..(22)

<223>

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1557)

<223>

```

<400> 1
aac tat agg gcc ttc gcg ctg gcg ctc ctc ttc tgc gcc ttg tcc tgc      48
Asn Tyr Arg Ala Phe Ala Leu Ala Leu Leu Phe Cys Ala Leu Ser Cys
1          5          10          15

caa gcc gcc gcg gcc gcc tac gcg ccc gtg cct gcc aag gcg gac ttc      96
Gln Ala Ala Ala Ala Tyr Ala Pro Val Pro Ala Lys Ala Asp Phe
          20          25          30

ctc gga tgc ctc atg aag gag ata ccg gcc cgc ctc ctc tac gcc aag      144
Leu Gly Cys Leu Met Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Tyr Ala Lys
          35          40          45

agc tcg cct gac tac ccc acc gtg ctg gcg cag acc atc agg aac tcg      192
Ser Ser Pro Asp Tyr Pro Thr Val Leu Ala Gln Thr Ile Arg Asn Ser
          50          55          60

cgg tgg tcg tcg ccg cag aac gtg aag ccg atc tac atc atc acc ccc      240
Arg Trp Ser Ser Pro Gln Asn Val Lys Pro Ile Tyr Ile Ile Thr Pro
65          70          75          80

acc aac gcc tcg cac atc cag tcc gcg gtg gtg tgc ggc cgc cgg cac      288
Thr Asn Ala Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His
          85          90          95

ggc atc cgc ctc cgc gtg cgg agc ggc ggc cac gac tac gag ggc ctg      336
Gly Ile Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu
          100          105          110

tcg tac cgg tct gag aaa ccc gag acg ttc gcc gtc gtc gac ctc aac      384
Ser Tyr Arg Ser Glu Lys Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn
          115          120          125

aag atg cgg gca gtg tcg gtc gac ggc tac gcc cgc acg gcg tgg gtc      432
Lys Met Arg Ala Val Ser Val Asp Gly Tyr Ala Arg Thr Ala Trp Val
          130          135          140

gaa tcc ggc gcg cag ctc ggc gag ctc tac tac gcg atc gcc aag aac      480
Glu Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn
          145          150          155          160

```

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| agc | ccc | gtg | ctc | gcg | ttc | ccg | gct | ggc | gtc | tgc | ccg | tcc | atc | ggc | gtc | 528 |
| Ser | Pro | Val | Leu | Ala | Phe | Pro | Ala | Gly | Val | Cys | Pro | Ser | Ile | Gly | Val | |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | |
| ggc | ggc | aac | ttc | gca | ggc | ggc | ggc | ttt | ggc | atg | ctg | ctg | cgc | aag | tac | 576 |
| Gly | Gly | Asn | Phe | Ala | Gly | Gly | Gly | Phe | Gly | Met | Leu | Leu | Arg | Lys | Tyr | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| ggc | atc | gcc | gct | gag | aac | gtc | atc | gac | gtc | aag | gtg | gtc | gac | ccc | aac | 624 |
| Gly | Ile | Ala | Ala | Glu | Asn | Val | Ile | Asp | Val | Lys | Val | Val | Asp | Pro | Asn | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| ggc | aag | ctg | ctc | gac | aag | agc | tcc | atg | agc | gcg | gac | cac | ttc | tgg | gcc | 672 |
| Gly | Lys | Leu | Leu | Asp | Lys | Ser | Ser | Met | Ser | Ala | Asp | His | Phe | Trp | Ala | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |
| gtt | agg | ggc | ggc | ggc | gga | gag | agc | ttt | ggc | atc | gtc | gtc | tcg | tgg | cag | 720 |
| Val | Arg | Gly | Gly | Gly | Gly | Glu | Ser | Phe | Gly | Ile | Val | Val | Ser | Trp | Gln | |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| gtg | aag | ctc | ctg | ccg | gtg | cct | ccc | acc | gtg | acc | gtg | ctc | aag | atc | ccc | 768 |
| Val | Lys | Leu | Leu | Pro | Val | Pro | Pro | Thr | Val | Thr | Val | Leu | Lys | Ile | Pro | |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| aag | acg | gtg | caa | gaa | ggc | gcc | ata | gac | ctc | gtc | aac | aag | tgg | cag | ctg | 816 |
| Lys | Thr | Val | Gln | Glu | Gly | Ala | Ile | Asp | Leu | Val | Asn | Lys | Trp | Gln | Leu | |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | |
| gtc | ggg | ccg | gca | ctt | ccc | ggc | gac | ctc | atg | atc | cgc | atc | atc | ctt | gcc | 864 |
| Val | Gly | Pro | Ala | Leu | Pro | Gly | Asp | Leu | Met | Ile | Arg | Ile | Ile | Leu | Ala | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | |
| ggg | aac | agc | gcg | acg | ttc | gag | gcc | atg | tac | ctg | ggc | acc | tgc | agt | acc | 912 |
| Gly | Asn | Ser | Ala | Thr | Phe | Glu | Ala | Met | Tyr | Leu | Gly | Thr | Cys | Ser | Thr | |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | |
| ctg | acg | ccg | ctg | atg | agc | agc | aaa | ttc | ccc | gag | ctt | ggc | atg | aac | ccc | 960 |
| Leu | Thr | Pro | Leu | Met | Ser | Ser | Lys | Phe | Pro | Glu | Leu | Gly | Met | Asn | Pro | |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| tcg | cac | tgc | aac | gag | atg | tcc | tgg | atc | aag | tcc | atc | ccc | ttc | atc | cac | 1008 |
| Ser | His | Cys | Asn | Glu | Met | Ser | Trp | Ile | Lys | Ser | Ile | Pro | Phe | Ile | His | |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | |
| ctc | ggc | aag | cag | aac | ctc | gac | gac | ctc | ctc | aac | cgg | aac | aac | acc | ttc | 1056 |
| Leu | Gly | Lys | Gln | Asn | Leu | Asp | Asp | Leu | Leu | Asn | Arg | Asn | Asn | Thr | Phe | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | |
| aaa | cca | ttc | gcc | gaa | tac | aag | tcg | gac | tac | gtg | tac | cag | ccc | ttc | ccc | 1104 |
| Lys | Pro | Phe | Ala | Glu | Tyr | Lys | Ser | Asp | Tyr | Val | Tyr | Gln | Pro | Phe | Pro | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| aag | ccc | gtg | tgg | gag | cag | atc | ttc | ggc | tgg | ctt | gtg | aag | ccc | ggc | gcg | 1152 |
| Lys | Pro | Val | Trp | Glu | Gln | Ile | Phe | Gly | Trp | Leu | Val | Lys | Pro | Gly | Ala | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | |
| ggg | atc | atg | atc | atg | gac | ccc | tat | ggc | gcc | acc | atc | agc | gct | acc | ccc | 1200 |
| Gly | Ile | Met | Ile | Met | Asp | Pro | Tyr | Gly | Ala | Thr | Ile | Ser | Ala | Thr | Pro | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| gaa | gcg | gcg | acg | ccg | ttc | cct | cac | cgc | cag | ggc | gtc | ctc | ttc | aac | atc | 1248 |

- 4 -

Glu Ala Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Gln Gly Val Leu Phe Asn Ile
 405 410 415
 cag tac gtc aac tac tgg ttc gct gag tca gcc gcc gcg gcg ccg ctg 1296
 Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Ala Glu Ser Ala Gly Ala Ala Pro Leu
 420 425 430
 cag tgg agc aag gac ata tac aag ttc atg gag ccg tac gtg agc aaa 1344
 Gln Trp Ser Lys Asp Ile Tyr Lys Phe Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys
 435 440 445
 aat ccc agg cag gcg tat gcc aac tac agg gac atc gac ctt gcc agg 1392
 Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg
 450 455 460
 aat gag gtg gtg aac gac atc tcc acc tac agc agc gcc aaa gtg tgg 1440
 Asn Glu Val Val Asn Asp Ile Ser Thr Tyr Ser Ser Gly Lys Val Trp
 465 470 475 480
 ggt gag aag tac ttc aag gcc aac ttc caa agg ctc gcc att acc aag 1488
 Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys
 485 490 495
 gcc aag gtg gat cct cag gac tac ttc agg aac gag cag agc atc ccg 1536
 Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro
 500 505 510
 cca ctg gtc gag aag tac tga tcgaggacct tgcattggaaa tttagtgcgt 1587
 Pro Leu Val Glu Lys Tyr
 515
 gggtggcggtt tcacat 1603

 <210> 2
 <211> 518
 <212> PRT
 <213> Sec c 4

 <400> 2
 Asn Tyr Arg Ala Phe Ala Leu Ala Leu Leu Phe Cys Ala Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Ala Ala Ala Tyr Ala Pro Val Pro Ala Lys Ala Asp Phe
 20 25 30
 Leu Gly Cys Leu Met Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Tyr Ala Lys
 35 40 45
 Ser Ser Pro Asp Tyr Pro Thr Val Leu Ala Gln Thr Ile Arg Asn Ser
 50 55 60

Arg Trp Ser Ser Pro Gln Asn Val Lys Pro Ile Tyr Ile Ile Thr Pro
 65 70 75 80
 Thr Asn Ala Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His
 85 90 95
 Gly Ile Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu
 100 105 110
 Ser Tyr Arg Ser Glu Lys Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn
 115 120 125
 Lys Met Arg Ala Val Ser Val Asp Gly Tyr Ala Arg Thr Ala Trp Val
 130 135 140
 Glu Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn
 145 150 155 160
 Ser Pro Val Leu Ala Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Ser Ile Gly Val
 165 170 175
 Gly Gly Asn Phe Ala Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr
 180 185 190
 Gly Ile Ala Ala Glu Asn Val Ile Asp Val Lys Val Val Asp Pro Asn
 195 200 205
 Gly Lys Leu Leu Asp Lys Ser Ser Met Ser Ala Asp His Phe Trp Ala
 210 215 220
 Val Arg Gly Gly Gly Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ser Trp Gln
 225 230 235 240
 Val Lys Leu Leu Pro Val Pro Pro Thr Val Thr Val Leu Lys Ile Pro
 245 250 255
 Lys Thr Val Gln Glu Gly Ala Ile Asp Leu Val Asn Lys Trp Gln Leu
 260 265 270
 Val Gly Pro Ala Leu Pro Gly Asp Leu Met Ile Arg Ile Ile Leu Ala
 275 280 285
 Gly Asn Ser Ala Thr Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Ser Thr
 290 295 300
 Leu Thr Pro Leu Met Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro
 305 310 315 320

Ser His Cys Asn Glu Met Ser Trp Ile Lys Ser Ile Pro Phe Ile His
 325 330 335

Leu Gly Lys Gln Asn Leu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr Phe
 340 345 350

Lys Pro Phe Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Pro Phe Pro
 355 360 365

Lys Pro Val Trp Glu Gln Ile Phe Gly Trp Leu Val Lys Pro Gly Ala
 370 375 380

Gly Ile Met Ile Met Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro
 385 390 395 400

Glu Ala Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Gln Gly Val Leu Phe Asn Ile
 405 410 415

Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Ala Glu Ser Ala Gly Ala Ala Pro Leu
 420 425 430

Gln Trp Ser Lys Asp Ile Tyr Lys Phe Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys
 435 440 445

Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg
 450 455 460

Asn Glu Val Val Asn Asp Ile Ser Thr Tyr Ser Ser Gly Lys Val Trp
 465 470 475 480

Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys
 485 490 495

Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro
 500 505 510

Pro Leu Val Glu Lys Tyr
 515

<210> 3

<211> 1644

<212> DNA

<213> Sec c 4

<220>

<221> stop_codon

<222> (1561)..(1563)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_DNA

<222> (1)..(66)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_PROT

<222> (1)..(22)

<223>

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1563)

<223>

<400> 3

| | |
|---|-----|
| aac tgc agg gcc ttt gct ctg gtg ccc ctc ctc atc tgc gtc ttg tcc | 48 |
| Asn Ser Arg Ala Phe Ala Leu Val Pro Leu Leu Ile Cys Val Leu Ser | |
| 1 5 10 15 | |
| tgc cac gcc gcc gtc tcc tac gcg gcg gcg ccg gtg ccg gcc aag gag | 96 |
| Cys His Ala Ala Val Ser Tyr Ala Ala Ala Pro Val Pro Ala Lys Glu | |
| 20 25 30 | |
| gac ttc ttc gga tgc ctg gtg aag gag ata ccg gcc cgc ctc ctc tac | 144 |
| Asp Phe Phe Gly Cys Leu Val Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Tyr | |
| 35 40 45 | |
| gcc aag agc tcg cct gcc ttc ccc acc gtc ctg gcg cag acc atc agg | 192 |
| Ala Lys Ser Ser Pro Ala Phe Pro Thr Val Leu Ala Gln Thr Ile Arg | |
| 50 55 60 | |
| aac tgc cgg tgg tcg tcg ccg cag agc gtg aag ccg ctc tac atc atc | 240 |
| Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro Gln Ser Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile | |
| 65 70 75 80 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| acc | ccc | acc | aac | gcc | tcc | cac | atc | cag | tcc | gcg | gtg | gtg | tgc | ggc | cgc | 288 |
| Thr | Pro | Thr | Asn | Ala | Ser | His | Ile | Gln | Ser | Ala | Val | Val | Cys | Gly | Arg | |
| | | | 85 | | | | | | 90 | | | | | 95 | | |
| cgg | cac | ggc | gtc | cgc | atc | cgc | gtg | cgg | agc | ggc | ggc | cac | gac | tac | gag | 336 |
| Arg | His | Gly | Val | Arg | Ile | Arg | Val | Arg | Ser | Gly | Gly | His | Asp | Tyr | Glu | |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | |
| ggc | ctg | tcg | tac | cgg | tcc | gag | cgc | ccc | gag | gcg | ttc | gcc | gtc | gtc | gac | 384 |
| Gly | Leu | Ser | Tyr | Arg | Ser | Glu | Arg | Pro | Glu | Ala | Phe | Ala | Val | Val | Asp | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| ctc | aac | aag | atg | cgg | gcc | gtg | gtg | gtc | gac | ggc | aag | gct | cgc | acg | gcg | 432 |
| Leu | Asn | Lys | Met | Arg | Ala | Val | Val | Val | Asp | Gly | Lys | Ala | Arg | Thr | Ala | |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| tgg | gtg | gac | tcc | ggc | gcg | cag | ctc | ggc | gag | ctc | tac | tac | gcc | atc | gcc | 480 |
| Trp | Val | Asp | Ser | Gly | Ala | Gln | Leu | Gly | Glu | Leu | Tyr | Tyr | Ala | Ile | Ala | |
| 145 | | | | | 150 | | | | 155 | | | | | | 160 | |
| aag | aac | agc | ccc | gtg | ctc | gcg | ttc | ccg | gcc | ggc | gtt | tgc | ccg | acc | att | 528 |
| Lys | Asn | Ser | Pro | Val | Leu | Ala | Phe | Pro | Ala | Gly | Val | Cys | Pro | Thr | Ile | |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | |
| ggc | gta | ggc | ggc | aac | ttc | gct | ggc | ggc | ggc | ttc | ggc | atg | ctg | ctg | cgc | 576 |
| Gly | Val | Gly | Gly | Asn | Phe | Ala | Gly | Gly | Gly | Phe | Gly | Met | Leu | Leu | Arg | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| aag | tac | ggc | atc | gcc | gcc | gag | aac | gtc | atc | gac | gtg | aag | gtg | gtc | gac | 624 |
| Lys | Tyr | Gly | Ile | Ala | Ala | Glu | Asn | Val | Ile | Asp | Val | Lys | Val | Val | Asp | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| gcc | aac | ggc | aca | ctg | ctc | gac | aag | agc | tcc | atg | agc | gcg | gat | cac | ttc | 672 |
| Ala | Asn | Gly | Thr | Leu | Leu | Asp | Lys | Ser | Ser | Met | Ser | Ala | Asp | His | Phe | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |
| tgg | gcc | gtc | agg | ggc | ggc | ggc | gga | gag | agc | ttc | ggc | atc | gtc | gtg | tcg | 720 |
| Trp | Ala | Val | Arg | Gly | Gly | Gly | Gly | Glu | Ser | Phe | Gly | Ile | Val | Val | Ser | |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| tgg | cag | gtg | aag | ctc | ctc | ccg | gtg | cct | ccc | acc | gtg | acc | gtg | ttc | aag | 768 |
| Trp | Gln | Val | Lys | Leu | Leu | Pro | Val | Pro | Pro | Thr | Val | Thr | Val | Phe | Lys | |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| atc | ccc | aag | acg | gtg | caa | gaa | ggc | gcc | gta | gag | ctc | atc | aac | aag | tgg | 816 |
| Ile | Pro | Lys | Thr | Val | Gln | Glu | Gly | Ala | Val | Glu | Leu | Ile | Asn | Lys | Trp | |
| | | | 260 | | | | 265 | | | | | | 270 | | | |
| cag | cta | gtc | gcg | ccg | gcc | ctc | ccc | gac | gac | ctg | atg | atc | cgc | atc | atc | 864 |
| Gln | Leu | Val | Ala | Pro | Ala | Leu | Pro | Asp | Asp | Leu | Met | Ile | Arg | Ile | Ile | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | |
| gct | ttc | ggc | ggc | acc | gcc | aag | ttc | gag | gcc | atg | tac | ctg | ggc | acc | tgc | 912 |
| Ala | Phe | Gly | Gly | Thr | Ala | Lys | Phe | Glu | Ala | Met | Tyr | Leu | Gly | Thr | Cys | |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | |
| aaa | gcc | ctg | aca | ccg | ctg | atg | agc | agc | aga | ttc | ccc | gag | ctc | ggc | atg | 960 |
| Lys | Ala | Leu | Thr | Pro | Leu | Met | Ser | Ser | Arg | Phe | Pro | Glu | Leu | Gly | Met | |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| aac | gcc | tcg | cac | tgc | aac | gag | atg | ccc | tgg | atc | aag | tcc | gtc | cca | ttc | 1008 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-----|-----|-----|------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|--|------|
| Asn | Ala | Ser | His | Cys | Asn | Glu | Met | Pro | Trp | Ile | Lys | Ser | Val | Pro | Phe | | |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | | |
| atc | cac | ctt | ggc | aag | cag | gcc | acc | ctc | tcc | gac | ctc | ctc | aac | cgg | aac | | 1056 |
| Ile | His | Leu | Gly | Lys | Gln | Ala | Thr | Leu | Ser | Asp | Leu | Leu | Asn | Arg | Asn | | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | | |
| aac | acc | ttc | aaa | ccc | ttc | gcc | gag | tac | aag | tcg | gac | tac | gtc | tac | cag | | 1104 |
| Asn | Thr | Phe | Lys | Pro | Phe | Ala | Glu | Tyr | Lys | Ser | Asp | Tyr | Val | Tyr | Gln | | |
| | | | 355 | | | | 360 | | | | | 365 | | | | | |
| ccc | gtc | ccc | aag | ccc | gtc | tgg | gcg | cag | atc | ttc | gtc | tgg | ctc | gtc | aaa | | 1152 |
| Pro | Val | Pro | Lys | Pro | Val | Trp | Ala | Gln | Ile | Phe | Val | Trp | Leu | Val | Lys | | |
| | | | 370 | | | 375 | | | | | 380 | | | | | | |
| ccc | ggc | gcc | ggg | atc | atg | gtc | atg | gac | ccc | tac | ggc | gcc | gcc | atc | agc | | 1200 |
| Pro | Gly | Ala | Gly | Ile | Met | Val | Met | Asp | Pro | Tyr | Gly | Ala | Ala | Ile | Ser | | |
| | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | | |
| gcc | acc | ccc | gaa | gcc | gcc | acg | ccg | ttc | cct | cac | cgc | aag | gac | gtc | ctc | | 1248 |
| Ala | Thr | Pro | Glu | Ala | Ala | Thr | Pro | Phe | Pro | His | Arg | Lys | Asp | Val | Leu | | |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | | | |
| ttc | aac | atc | cag | tac | gtc | aac | tac | tgg | ttc | gac | gag | gca | ggc | ggc | gcc | | 1296 |
| Phe | Asn | Ile | Gln | Tyr | Val | Asn | Tyr | Trp | Phe | Asp | Glu | Ala | Gly | Gly | Ala | | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | | | |
| gcg | ccg | ctg | cag | tgg | agc | aag | gac | atg | tac | agg | ttc | atg | gag | ccg | tac | | 1344 |
| Ala | Pro | Leu | Gln | Trp | Ser | Lys | Asp | Met | Tyr | Arg | Phe | Met | Glu | Pro | Tyr | | |
| | | | 435 | | | | 440 | | | | | 445 | | | | | |
| gtc | agc | aag | aac | ccc | aga | cag | gcc | tac | gcc | aac | tac | agg | gac | atc | gac | | 1392 |
| Val | Ser | Lys | Asn | Pro | Arg | Gln | Ala | Tyr | Ala | Asn | Tyr | Arg | Asp | Ile | Asp | | |
| | | | 450 | | | 455 | | | | | 460 | | | | | | |
| ctc | ggc | agg | aac | gag | gtg | gtc | aac | gac | atc | tcc | acc | tat | gcc | agc | ggc | | 1440 |
| Leu | Gly | Arg | Asn | Glu | Val | Val | Asn | Asp | Ile | Ser | Thr | Tyr | Ala | Ser | Gly | | |
| | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 | | |
| aag | gtc | tgg | ggc | gag | aag | tac | ttc | aag | ggc | aac | ttc | caa | agg | ctc | gcc | | 1488 |
| Lys | Val | Trp | Gly | Glu | Lys | Tyr | Phe | Lys | Gly | Asn | Phe | Gln | Arg | Leu | Ala | | |
| | | | | 485 | | | | | 490 | | | | | 495 | | | |
| att | acc | aag | ggc | aag | gtg | gat | cct | cag | gac | tac | ttc | agg | aac | gag | cag | | 1536 |
| Ile | Thr | Lys | Gly | Lys | Val | Asp | Pro | Gln | Asp | Tyr | Phe | Arg | Asn | Glu | Gln | | |
| | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | | | |
| agc | atc | ccg | ccg | ctg | cta | ggg | aag | tag | tagtactctt | gcttgcatgg | | | | | | | 1583 |
| Ser | Ile | Pro | Pro | Leu | Leu | Gly | Lys | | | | | | | | | | |
| | | | 515 | | | | 520 | | | | | | | | | | |
| agatttgtag | tgcgctctttc | gcggtttcaaa | tgcccaacta | gtagaataag | gatcgtgcgt | | | | | | | | | | | | 1643 |
| a | | | | | | | | | | | | | | | | | 1644 |

<210> 4

<211> 520

<212> PRT

- 10 -

<213> Sec c 4

<400> 4

Asn Ser Arg Ala Phe Ala Leu Val Pro Leu Leu Ile Cys Val Leu Ser
 1 5 10 15

Cys His Ala Ala Val Ser Tyr Ala Ala Ala Pro Val Pro Ala Lys Glu
 20 25 30

Asp Phe Phe Gly Cys Leu Val Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Tyr
 35 40 45

Ala Lys Ser Ser Pro Ala Phe Pro Thr Val Leu Ala Gln Thr Ile Arg
 50 55 60

Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro Gln Ser Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile
 65 70 75 80

Thr Pro Thr Asn Ala Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg
 85 90 95

Arg His Gly Val Arg Ile Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu
 100 105 110

Gly Leu Ser Tyr Arg Ser Glu Arg Pro Glu Ala Phe Ala Val Val Asp
 115 120 125

Leu Asn Lys Met Arg Ala Val Val Val Asp Gly Lys Ala Arg Thr Ala
 130 135 140

Trp Val Asp Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala
 145 150 155 160

Lys Asn Ser Pro Val Leu Ala Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile
 165 170 175

Gly Val Gly Gly Asn Phe Ala Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg
 180 185 190

Lys Tyr Gly Ile Ala Ala Glu Asn Val Ile Asp Val Lys Val Val Asp
 195 200 205

Ala Asn Gly Thr Leu Leu Asp Lys Ser Ser Met Ser Ala Asp His Phe
 210 215 220

- 11 -

Trp Ala Val Arg Gly Gly Gly Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ser
 225 230 235 240

Trp Gln Val Lys Leu Leu Pro Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Lys
 245 250 255

Ile Pro Lys Thr Val Gln Glu Gly Ala Val Glu Leu Ile Asn Lys Trp
 260 265 270

Gln Leu Val Ala Pro Ala Leu Pro Asp Asp Leu Met Ile Arg Ile Ile
 275 280 285

Ala Phe Gly Gly Thr Ala Lys Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys
 290 295 300

Lys Ala Leu Thr Pro Leu Met Ser Ser Arg Phe Pro Glu Leu Gly Met
 305 310 315 320

Asn Ala Ser His Cys Asn Glu Met Pro Trp Ile Lys Ser Val Pro Phe
 325 330 335

Ile His Leu Gly Lys Gln Ala Thr Leu Ser Asp Leu Leu Asn Arg Asn
 340 345 350

Asn Thr Phe Lys Pro Phe Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln
 355 360 365

Pro Val Pro Lys Pro Val Trp Ala Gln Ile Phe Val Trp Leu Val Lys
 370 375 380

Pro Gly Ala Gly Ile Met Val Met Asp Pro Tyr Gly Ala Ala Ile Ser
 385 390 395 400

Ala Thr Pro Glu Ala Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Asp Val Leu
 405 410 415

Phe Asn Ile Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Asp Glu Ala Gly Gly Ala
 420 425 430

Ala Pro Leu Gln Trp Ser Lys Asp Met Tyr Arg Phe Met Glu Pro Tyr
 435 440 445

Val Ser Lys Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp
 450 455 460

Leu Gly Arg Asn Glu Val Val Asn Asp Ile Ser Thr Tyr Ala Ser Gly
 465 470 475 480

- 12 -

Lys Val Trp Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala
 485 490 495

Ile Thr Lys Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln
 500 505 510

Ser Ile Pro Pro Leu Leu Gly Lys
 515 520

<210> 5

<211> 1608

<212> DNA

<213> Hor v 4

<220>

<221> stop_codon

<222> (1555)..(1557)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_DNA

<222> (1)..(66)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_PROT

<222> (1)..(22)

<223>

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1557)

<223>

<400> 5
 agc tcg agg gcc ttc gct ctg gtg ctc ctc ctc tgc gcc ttg tcc tgc 48
 Ser Ser Arg Ala Phe Ala Leu Val Leu Leu Leu Cys Ala Leu Ser Cys
 1 5 10 15

 cac cac gct gcc gtc tcc tcc gcg cag gtg ccg gcc aag gac gac ttc 96
 His His Ala Ala Val Ser Ser Ala Gln Val Pro Ala Lys Asp Asp Phe
 20 25 30

 ctg gga tgc ctc gtg aag gag ata ccg gcc cgc ctc ctc ttc gcc aag 144
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Phe Ala Lys
 35 40 45

 agc tcg cct gcc ttc ccc gcc gtc ctg gag cag acc atc agg aac tcg 192
 Ser Ser Pro Ala Phe Pro Ala Val Leu Glu Gln Thr Ile Arg Asn Ser
 50 55 60

 cgg tgg tgc tgc ccg cag aac gtg aag ccg ctc tac atc atc acc ccc 240
 Arg Trp Ser Ser Pro Gln Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro
 65 70 75 80

 acc aac acc tcc cac atc cag tct gct gtg gtg tgc ggc cgc cgg cac 288
 Thr Asn Thr Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His
 85 90 95

 ggc gtc cgc ctc cgc gtg cgg agc ggc ggc cac gac tac gag ggc ctg 336
 Gly Val Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu
 100 105 110

 tcg tac cgg tcc gag cgc ccc gag gcg ttc gcc gtc gta gac ctc aac 384
 Ser Tyr Arg Ser Glu Arg Pro Glu Ala Phe Ala Val Val Asp Leu Asn
 115 120 125

 aag atg cgg acc gtg ttg gtc aac gaa aag gcc cgc acg gcg tgg gtg 432
 Lys Met Arg Thr Val Leu Val Asn Glu Lys Ala Arg Thr Ala Trp Val
 130 135 140

 gac tcc gcc gcg cag ctc gcc gag ctc tac tac gcc atc gcc aag aac 480
 Asp Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn
 145 150 155 160

 agc ccc gtg ctc gcg ttc cca gcc gcc gtt tgc ccg tcc att ggt gta 528
 Ser Pro Val Leu Ala Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Ser Ile Gly Val
 165 170 175

 ggt gcc aac ttc gct gcc gcc gcc ttc gcc atg ctg ctg cgc aag tac 576
 Gly Gly Asn Phe Ala Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr
 180 185 190

 gcc atc gcc gcc gag aac gtc atc gac gtc aag ctg gtc gac gcc aac 624
 Gly Ile Ala Ala Glu Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn
 195 200 205

 gcc aag ctg ctc gac aag agc tcc atg agc ccg gac cac ttc tgg gcc 672
 Gly Lys Leu Leu Asp Lys Ser Ser Met Ser Pro Asp His Phe Trp Ala
 210 215 220

 gtc agg gcc gcc gcc gga gag agc ttc gcc atc gtc gtc tgc tgg cag 720
 Val Arg Gly Gly Gly Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ser Trp Gln
 225 230 235 240

| | |
|---|------|
| gtg aag ctt ctc ccg gtg cct ccc acc gtg act gtg ttt cag atc ccc Val Lys Leu Leu Pro Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Gln Ile Pro 245 250 255 | 768 |
| aag aca gtg caa gaa ggc gcc gta gac ctc atc aac aag tgg cag ctg Lys Thr Val Gln Glu Gly Ala Val Asp Leu Ile Asn Lys Trp Gln Leu 260 265 270 | 816 |
| gtc gcg ccg gcc ctt ccc ggc gac atc atg atc cgc atc atc gcc atg Val Ala Pro Ala Leu Pro Gly Asp Ile Met Ile Arg Ile Ile Ala Met 275 280 285 | 864 |
| ggg gac aaa gcg acg ttc gag gcc atg tac ctg ggc acc tgc aaa acc Gly Asp Lys Ala Thr Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Lys Thr 290 295 300 | 912 |
| ctg acg ccg ctg atg agc agc aaa ttc ccg gag ctt ggc atg aac ccc Leu Thr Pro Leu Met Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro 305 310 315 320 | 960 |
| tcg cac tgc aac gag atg ccc tgg atc aag tcc atc ccc ttc atc cac Ser His Cys Asn Glu Met Pro Trp Ile Lys Ser Ile Pro Phe Ile His 325 330 335 | 1008 |
| ctt ggc aag cag gcc acc ctg gcc gac ctc ctc aac cgg aac aac acc Leu Gly Lys Gln Ala Thr Leu Ala Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr 340 345 350 | 1056 |
| ttc aaa ccc ttc gcc gaa tac aag tcg gac tac gtc tac cag ccc gtc Phe Lys Pro Phe Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Pro Val 355 360 365 | 1104 |
| ccc aag ccc gtg tgg gag cag ctc ttc ggc tgg ctc acg aaa ccc ggc Pro Lys Pro Val Trp Glu Gln Leu Phe Gly Trp Leu Thr Lys Pro Gly 370 375 380 | 1152 |
| gcg ggg atc atg gtc atg gac cca tac ggc gcc acc atc agc gcc acc Ala Gly Ile Met Val Met Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr 385 390 395 400 | 1200 |
| ccc gaa gcg gcg acg ccg ttc cct cac cgc aag ggc gtc ctc ttc aac Pro Glu Ala Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn 405 410 415 | 1248 |
| atc cag tac gtc aac tac tgg ttc gcc gag gca gcc ggc gcc gcg ccg Ile Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Ala Glu Ala Ala Gly Ala Ala Pro 420 425 430 | 1296 |
| ctg cag tgg agc aag gac att tac aaa ttc atg gag ccg ttc gtg agc Leu Gln Trp Ser Lys Asp Ile Tyr Lys Phe Met Glu Pro Phe Val Ser 435 440 445 | 1344 |
| aag aac ccc agg cag gcg tac gcc aac tac agg gac atc gac ctc ggc Lys Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly 450 455 460 | 1392 |
| agg aac gag gtg gtg aac gac atc tca acc tac agc agc ggc aag gtg Arg Asn Glu Val Val Asn Asp Ile Ser Thr Tyr Ser Ser Gly Lys Val 465 470 475 480 | 1440 |
| tgg ggc gag aag tac ttc aag ggc aac ttc caa agg ctc gcc atc acc | 1488 |

- 15 -

Trp Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr
 485 490 495
 aag ggc aag gtg gat ccc cag gac tac ttc agg aac gag cag agc atc 1536
 Lys Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile
 500 505 510
 ccg ccg ctg ctg ggc aag tag tgaccgagag tcttgcatgg agattttag 1587
 Pro Pro Leu Leu Gly Lys
 515
 tgcgtgcttg gcgtttctga t 1608

 <210> 6
 <211> 518
 <212> PRT
 <213> Hor v 4

 <400> 6
 Ser Ser Arg Ala Phe Ala Leu Val Leu Leu Leu Cys Ala Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 His His Ala Ala Val Ser Ser Ala Gln Val Pro Ala Lys Asp Asp Phe
 20 25 30
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Phe Ala Lys
 35 40 45
 Ser Ser Pro Ala Phe Pro Ala Val Leu Glu Gln Thr Ile Arg Asn Ser
 50 55 60
 Arg Trp Ser Ser Pro Gln Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro
 65 70 75 80
 Thr Asn Thr Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His
 85 90 95
 Gly Val Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu
 100 105 110
 Ser Tyr Arg Ser Glu Arg Pro Glu Ala Phe Ala Val Val Asp Leu Asn
 115 120 125
 Lys Met Arg Thr Val Leu Val Asn Glu Lys Ala Arg Thr Ala Trp Val
 130 135 140

- 16 -

Asp Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn
 145 150 155 160

Ser Pro Val Leu Ala Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Ser Ile Gly Val
 165 170 175

Gly Gly Asn Phe Ala Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr
 180 185 190

Gly Ile Ala Ala Glu Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn
 195 200 205

Gly Lys Leu Leu Asp Lys Ser Ser Met Ser Pro Asp His Phe Trp Ala
 210 215 220

Val Arg Gly Gly Gly Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ser Trp Gln
 225 230 235 240

Val Lys Leu Leu Pro Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Gln Ile Pro
 245 250 255

Lys Thr Val Gln Glu Gly Ala Val Asp Leu Ile Asn Lys Trp Gln Leu
 260 265 270

Val Ala Pro Ala Leu Pro Gly Asp Ile Met Ile Arg Ile Ile Ala Met
 275 280 285

Gly Asp Lys Ala Thr Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Lys Thr
 290 295 300

Leu Thr Pro Leu Met Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro
 305 310 315 320

Ser His Cys Asn Glu Met Pro Trp Ile Lys Ser Ile Pro Phe Ile His
 325 330 335

Leu Gly Lys Gln Ala Thr Leu Ala Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr
 340 345 350

Phe Lys Pro Phe Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Pro Val
 355 360 365

Pro Lys Pro Val Trp Glu Gln Leu Phe Gly Trp Leu Thr Lys Pro Gly
 370 375 380

Ala Gly Ile Met Val Met Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr
 385 390 395 400

Pro Glu Ala Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn
405 410 415

Ile Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Ala Glu Ala Ala Gly Ala Ala Pro
420 425 430

Leu Gln Trp Ser Lys Asp Ile Tyr Lys Phe Met Glu Pro Phe Val Ser
435 440 445

Lys Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly
450 455 460

Arg Asn Glu Val Val Asn Asp Ile Ser Thr Tyr Ser Ser Gly Lys Val
465 470 475 480

Trp Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr
485 490 495

Lys Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile
500 505 510

Pro Pro Leu Leu Gly Lys
515

<210> 7

<211> 1603

<212> DNA

<213> Tri a 4

<220>

<221> stop_codon

<222> (1555) .. (1557)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_DNA

<222> (1) .. (63)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_PROT

<222> (1)..(21)

<223>

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1557)

<223>

<400> 7

| | |
|---|-----|
| aac tat agg gcc ttc acg ctg gtg ctc ctc ttc tgc gcc ttg tcc tgt | 48 |
| Asn Tyr Arg Ala Phe Thr Leu Val Leu Phe Cys Ala Leu Ser Cys | |
| 1 5 10 15 | |
| caa gcc gcc gcc acc tac gcg ccg gtg cct gcc aag gag gac ttc ctc | 96 |
| Gln Ala Ala Ala Thr Tyr Ala Pro Val Pro Ala Lys Glu Asp Phe Leu | |
| 20 25 30 | |
| gga tgc ctc atg aag gag ata ccg gca cgc ctc ctc tac gcc aag agc | 144 |
| Gly Cys Leu Met Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser | |
| 35 40 45 | |
| tcg cct gac ttc ccc acc gtc ctg gcg cag acc atc agg aac tcg cg | 192 |
| Ser Pro Asp Phe Pro Thr Val Leu Ala Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg | |
| 50 55 60 | |
| tgg ttg tcg ccg cag aac gtg aag ccg ctc tac atc atc acc ccc acc | 240 |
| Trp Leu Ser Pro Gln Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Thr | |
| 65 70 75 80 | |
| aac gcc tcg cac atc cag tcc gcg gtg gtg tgc gga cgc cgg cac agc | 288 |
| Asn Ala Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Ser | |
| 85 90 95 | |
| gtc cgc ctc cgc gtc cgg agc ggc ggc cac gac tac gag ggc ctg tcg | 336 |
| Val Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser | |
| 100 105 110 | |
| tac cgg tcc gag aaa ccc gag acg ttc gcc gtc gtc gac ctc aac aag | 384 |
| Tyr Arg Ser Glu Lys Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys | |
| 115 120 125 | |
| atg cgg gca gtg ttg atc gac ggc tac gcc cgc acg gcg tgg gtc gaa | 432 |
| Met Arg Ala Val Leu Ile Asp Gly Tyr Ala Arg Thr Ala Trp Val Glu | |
| 130 135 140 | |
| tcc ggc gcg cag ctc ggc gag ctc tac tac gcc atc gcg aaa aac agc | 480 |
| Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn Ser | |
| 145 150 155 160 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| ccc | gtg | ctc | gcg | ttc | ccg | gcc | ggc | gtc | tgc | ccg | acc | atc | ggc | gtc | ggc | 528 |
| Pro | Val | Leu | Ala | Phe | Pro | Ala | Gly | Val | Cys | Pro | Thr | Ile | Gly | Val | Gly | |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | | 175 | |
| ggc | aac | ttc | gca | ggc | ggc | ggc | ttt | ggc | atg | ctg | ctg | cgg | aag | tac | ggc | 576 |
| Gly | Asn | Phe | Ala | Gly | Gly | Gly | Phe | Gly | Met | Leu | Leu | Arg | Lys | Tyr | Gly | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| atc | gcc | gcc | gag | aac | gtc | atc | gac | gtc | aag | gtg | gtc | gac | ccc | aac | ggc | 624 |
| Ile | Ala | Ala | Glu | Asn | Val | Ile | Asp | Val | Lys | Val | Val | Asp | Pro | Asn | Gly | |
| | | | 195 | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| aag | ctt | ctc | gac | aag | agc | tcc | atg | agc | ccg | gac | cac | ttc | tgg | gcc | gtc | 672 |
| Lys | Leu | Leu | Asp | Lys | Ser | Ser | Met | Ser | Pro | Asp | His | Phe | Trp | Ala | Val | |
| | 210 | | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| agg | ggc | ggc | ggc | gga | gag | agc | ttt | ggc | atc | gtc | gtg | tcg | tgg | caa | gtg | 720 |
| Arg | Gly | Gly | Gly | Gly | Glu | Ser | Phe | Gly | Ile | Val | Val | Ser | Trp | Gln | Val | |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| aag | ctc | ctg | ccg | gtg | cct | ccc | acc | gtg | acc | gtg | ttc | aag | atc | ccc | aag | 768 |
| Lys | Leu | Leu | Pro | Val | Pro | Pro | Thr | Val | Thr | Val | Phe | Lys | Ile | Pro | Lys | |
| | | | | 245 | | | | 250 | | | | | | 255 | | |
| aca | gtg | caa | gaa | ggc | gcc | gta | gac | ctc | gtc | aac | aag | tgg | caa | ctg | gtc | 816 |
| Thr | Val | Gln | Glu | Gly | Ala | Val | Asp | Leu | Val | Asn | Lys | Trp | Gln | Leu | Val | |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | |
| ggg | ccg | gcc | ctt | ccc | ggc | gac | ctc | atg | atc | cgc | gtc | atc | gct | gcg | ggg | 864 |
| Gly | Pro | Ala | Leu | Pro | Gly | Asp | Leu | Met | Ile | Arg | Val | Ile | Ala | Ala | Gly | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | |
| aac | acc | gcg | aca | ttc | gag | ggc | atg | tac | ctg | ggc | acc | tgc | caa | acc | ctg | 912 |
| Asn | Thr | Ala | Thr | Phe | Glu | Gly | Met | Tyr | Leu | Gly | Thr | Cys | Gln | Thr | Leu | |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | |
| acg | ccg | ttg | atg | agc | agc | caa | ttc | ccc | gag | ctt | ggc | atg | aac | ccc | tat | 960 |
| Thr | Pro | Leu | Met | Ser | Ser | Gln | Phe | Pro | Glu | Leu | Gly | Met | Asn | Pro | Tyr | |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| cac | tgc | aac | gag | atg | ccc | tgg | atc | aag | tcc | atc | ccc | ttc | atc | cac | ctc | 1008 |
| His | Cys | Asn | Glu | Met | Pro | Trp | Ile | Lys | Ser | Ile | Pro | Phe | Ile | His | Leu | |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | |
| ggc | aaa | gag | gcc | agc | ctg | gtc | gac | ctc | ctc | aac | cgg | aac | aac | acc | ttc | 1056 |
| Gly | Lys | Glu | Ala | Ser | Leu | Val | Asp | Leu | Leu | Asn | Arg | Asn | Asn | Thr | Phe | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | |
| aag | ccc | ttc | gcc | gaa | tac | aag | tcg | gac | tac | gtg | tac | cag | ccc | ttc | ccc | 1104 |
| Lys | Pro | Phe | Ala | Glu | Tyr | Lys | Ser | Asp | Tyr | Val | Tyr | Gln | Pro | Phe | Pro | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| aag | ccc | gtg | tgg | gag | cag | atc | ttc | ggc | tgg | ctc | acg | aag | ccc | ggt | ggg | 1152 |
| Lys | Pro | Val | Trp | Glu | Gln | Ile | Phe | Gly | Trp | Leu | Thr | Lys | Pro | Gly | Gly | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | |
| ggg | atg | atg | atc | atg | gac | cca | tac | ggc | gcc | acc | atc | agc | gcc | acc | ccc | 1200 |
| Gly | Met | Met | Ile | Met | Asp | Pro | Tyr | Gly | Ala | Thr | Ile | Ser | Ala | Thr | Pro | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| gaa | gcg | gcg | acg | ccg | ttc | cct | cac | cgc | cag | ggc | gtt | ctc | ttc | aac | atc | 1248 |

- 20 -

Glu Ala Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Gln Gly Val Leu Phe Asn Ile
 405 410 415
 cag tac gtc aac tac tgg ttc gcc gag gca gcc gcc gcc gcg ccg ctg 1296
 Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Ala Glu Ala Ala Ala Ala Pro Leu
 420 425 430
 cag tgg agc aag gac atg tac aat ttc atg gag ccg tac gtg agc aag 1344
 Gln Trp Ser Lys Asp Met Tyr Asn Phe Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys
 435 440 445
 aac ccc agg cag gcg tac gcc aac tac agg gac att gac ctc ggc agg 1392
 Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg
 450 455 460
 aac gag gtg gtg aac gac atc tca acc tat agc agc ggc aag gtt tgg 1440
 Asn Glu Val Val Asn Asp Ile Ser Thr Tyr Ser Ser Gly Lys Val Trp
 465 470 475 480
 ggc gag aag tac ttc aag ggc aac ttc caa agg ctc gct att acc aag 1488
 Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys
 485 490 495
 ggc aag gtg gat cct cag gac tac ttc agg aac gag cag agc atc ccg 1536
 Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro
 500 505 510
 ccg ctg ctc gag aag tac tga tcgaggacct tgcattggaga tttagtgcgt 1587
 Pro Leu Leu Glu Lys Tyr
 515
 gggttgccggtt tcacat 1603

 <210> 8
 <211> 518
 <212> PRT
 <213> Tri a 4

 <400> 8
 Asn Tyr Arg Ala Phe Thr Leu Val Leu Leu Phe Cys Ala Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gln Ala Ala Ala Thr Tyr Ala Pro Val Pro Ala Lys Glu Asp Phe Leu
 20 25 30
 Gly Cys Leu Met Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser
 35 40 45
 Ser Pro Asp Phe Pro Thr Val Leu Ala Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg
 50 55 60

Trp Leu Ser Pro Gln Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Thr
 65 70 75 80
 Asn Ala Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Ser
 85 90 95
 Val Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser
 100 105 110
 Tyr Arg Ser Glu Lys Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys
 115 120 125
 Met Arg Ala Val Leu Ile Asp Gly Tyr Ala Arg Thr Ala Trp Val Glu
 130 135 140
 Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn Ser
 145 150 155 160
 Pro Val Leu Ala Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile Gly Val Gly
 165 170 175
 Gly Asn Phe Ala Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly
 180 185 190
 Ile Ala Ala Glu Asn Val Ile Asp Val Lys Val Val Asp Pro Asn Gly
 195 200 205
 Lys Leu Leu Asp Lys Ser Ser Met Ser Pro Asp His Phe Trp Ala Val
 210 215 220
 Arg Gly Gly Gly Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ser Trp Gln Val
 225 230 235 240
 Lys Leu Leu Pro Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Lys Ile Pro Lys
 245 250 255
 Thr Val Gln Glu Gly Ala Val Asp Leu Val Asn Lys Trp Gln Leu Val
 260 265 270
 Gly Pro Ala Leu Pro Gly Asp Leu Met Ile Arg Val Ile Ala Ala Gly
 275 280 285
 Asn Thr Ala Thr Phe Glu Gly Met Tyr Leu Gly Thr Cys Gln Thr Leu
 290 295 300
 Thr Pro Leu Met Ser Ser Gln Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro Tyr
 305 310 315 320

His Cys Asn Glu Met Pro Trp Ile Lys Ser Ile Pro Phe Ile His Leu
325 330 335

Gly Lys Glu Ala Ser Leu Val Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Thr Phe
340 345 350

Lys Pro Phe Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Pro Phe Pro
355 360 365

Lys Pro Val Trp Glu Gln Ile Phe Gly Trp Leu Thr Lys Pro Gly Gly
370 375 380

Gly Met Met Ile Met Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro
385 390 395 400

Glu Ala Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Gln Gly Val Leu Phe Asn Ile
405 410 415

Gln Tyr Val Asn Tyr Trp Phe Ala Glu Ala Ala Ala Ala Ala Pro Leu
420 425 430

Gln Trp Ser Lys Asp Met Tyr Asn Phe Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys
435 440 445

Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg
450 455 460

Asn Glu Val Val Asn Asp Ile Ser Thr Tyr Ser Ser Gly Lys Val Trp
465 470 475 480

Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys
485 490 495

Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro
500 505 510

Pro Leu Leu Glu Lys Tyr
515

<210> 9

<211> 1603

<212> DNA

<213> Tri a'4

<220>

<221> stop_codon

<222> (1555) .. (1557)

<223>

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1557)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_DNA

<222> (1) .. (63)

<223>

<220>

<221> signal_sequence_PROT

<222> (1) .. (21)

<223>

<400> 9

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| aac | tgt | agg | gcc | ttc | gcg | cag | gtg | ctc | ctc | ttc | ttc | gcc | ttg | tcc | tgc | 48 |
| Asn | Cys | Arg | Ala | Phe | Ala | Gln | Val | Leu | Leu | Phe | Phe | Ala | Leu | Ser | Cys | |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | 15 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| caa | gcc | gcc | gcc | acc | tac | gcg | ccg | gtg | cct | gcc | aag | gag | gac | ttc | ctc | 96 |
| Gln | Ala | Ala | Ala | Thr | Tyr | Ala | Pro | Val | Pro | Ala | Lys | Glu | Asp | Phe | Leu | |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gga | tgc | ctc | atg | aag | gag | ata | ccg | gcc | cgc | ctc | ctc | tac | gcc | aag | agc | 144 |
| Gly | Cys | Leu | Met | Lys | Glu | Ile | Pro | Ala | Arg | Leu | Leu | Tyr | Ala | Lys | Ser | |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| tcg | cct | gac | tac | ccc | acc | gtg | ctg | gcg | cag | acc | atc | agg | aac | tcg | cgg | 192 |
| Ser | Pro | Asp | Tyr | Pro | Thr | Val | Leu | Ala | Gln | Thr | Ile | Arg | Asn | Ser | Arg | |
| | | 50 | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| tgg | tcg | acg | cag | cag | aac | gtg | aag | ccg | ctg | tac | atc | atc | acc | ccc | acc | 240 |
| Trp | Ser | Thr | Gln | Gln | Asn | Val | Lys | Pro | Leu | Tyr | Ile | Ile | Thr | Pro | Thr | |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | |

| | |
|---|------|
| aac gcc tcc cac atc caa tcc gcg gtg gtg tgc ggc cgc cgg cac ggc Asn Ala Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Gly 85 90 95 | 288 |
| gtc cgc ctc cgc gtg cgg agc ggc ggc cac gac tac gag ggc ctg tcg Val Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser 100 105 110 | 336 |
| tac cgg tcc gag aaa ccc gag acg ttc gcc gtc gtc gac ctc aac aag Tyr Arg Ser Glu Lys Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys 115 120 125 | 384 |
| atg cgg gca gtg gtt gtc gac ggc tac gcc cgc acg gcg tgg gtc gaa Met Arg Ala Val Val Val Asp Gly Tyr Ala Arg Thr Ala Trp Val Glu 130 135 140 | 432 |
| tcc ggc gcg cag ctc ggc gag ctc tac tac gcc atc gcg aag aac agc Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn Ser 145 150 155 160 | 480 |
| ccc gtg ctc gcg ttc ccg gcc ggc gtc tgc ccg tcc atc ggc gtc ggc Pro Val Leu Ala Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Ser Ile Gly Val Gly 165 170 175 | 528 |
| ggc aac ttc gca ggc ggc ggc ttc ggc atg ctg ctg cgc aag tac ggc Gly Asn Phe Ala Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly 180 185 190 | 576 |
| atc gcc gcc gag aac gtc atc gac gtc aag gtg gtc gac ccc gac ggc Ile Ala Ala Glu Asn Val Ile Asp Val Lys Val Val Asp Pro Asp Gly 195 200 205 | 624 |
| aag ctg ctc gac aag agc tcc atg agc gcg gac cac ttc tgg gcc gtc Lys Leu Leu Asp Lys Ser Ser Met Ser Ala Asp His Phe Trp Ala Val 210 215 220 | 672 |
| agg ggc ggc ggc gga gag agc ttc ggc atc gtc gtc tcg tgg cag gtg Arg Gly Gly Gly Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ser Trp Gln Val 225 230 235 240 | 720 |
| aag ctc atg cca gtg cct ccc acc gtc acc gtg ttt aag atc ccc aag Lys Leu Met Pro Val Pro Pro Thr Val Thr Val Phe Lys Ile Pro Lys 245 250 255 | 768 |
| acg gtg caa gaa ggc gcc gta gac ctc gtc aac aag tgg cag ctg gtc Thr Val Gln Glu Gly Ala Val Asp Leu Val Asn Lys Trp Gln Leu Val 260 265 270 | 816 |
| ggg ccg gca ctt ccc ggc gac ctc atg atc cgc gtc atc gct gcc ggg Gly Pro Ala Leu Pro Gly Asp Leu Met Ile Arg Val Ile Ala Ala Gly 275 280 285 | 864 |
| aac acg gcg acg ttc gag gcc ttg tac ctg ggc acc tgc aaa acc ctg Asn Thr Ala Thr Phe Glu Ala Leu Tyr Leu Gly Thr Cys Lys Thr Leu 290 295 300 | 912 |
| acg ccg ctg atg agc agc caa ttc ccc gag ctt ggc atg aac ccc tat Thr Pro Leu Met Ser Ser Gln Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro Tyr 305 310 315 320 | 960 |
| cac tgc aac gag atg ccc tgg atc aag tcc gtc ccc ttc atc cac ctc | 1008 |

| His | Cys | Asn | Glu | Met | Pro | Trp | Ile | Lys | Ser | Val | Pro | Phe | Ile | His | Leu | |
|---------|------|--------|-----|-----|-----|-----|----------|-----|-----|---------|----------|------|-----|-----|-----|------|
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | | 335 | |
| ggc | aaa | cag | gct | ggc | ctg | gac | gac | ctc | ctc | aac | cgg | aac | aac | acc | ttc | 1056 |
| Gly | Lys | Gln | Ala | Gly | Leu | Asp | Asp | Leu | Leu | Asn | Arg | Asn | Asn | Thr | Phe | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | |
| aag | ccc | ttc | gcc | gaa | tac | aag | tgc | gac | tac | gtg | tac | cag | ccc | ttc | ccc | 1104 |
| Lys | Pro | Phe | Ala | Glu | Tyr | Lys | Ser | Asp | Tyr | Val | Tyr | Gln | Pro | Phe | Pro | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| aag | ccc | gtg | tgg | gag | cag | atc | ttc | ggc | tgg | ctc | gcg | aag | ccc | ggc | gcg | 1152 |
| Lys | Pro | Val | Trp | Glu | Gln | Ile | Phe | Gly | Trp | Leu | Ala | Lys | Pro | Gly | Ala | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | |
| ggg | atc | atg | atc | atg | gac | ccc | tac | ggc | gcc | acc | atc | agc | gcc | acc | ccc | 1200 |
| Gly | Ile | Met | Ile | Met | Asp | Pro | Tyr | Gly | Ala | Thr | Ile | Ser | Ala | Thr | Pro | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| gaa | gcg | gcg | acg | ccg | ttc | cct | cac | cgc | cag | ggc | gtc | ctc | ttc | aac | atc | 1248 |
| Glu | Ala | Ala | Thr | Pro | Phe | Pro | His | Arg | Gln | Gly | Val | Leu | Phe | Asn | Ile | |
| | | | 405 | | | | | | 410 | | | | | 415 | | |
| cag | tat | gtc | aac | tac | tgg | ttc | gcc | gag | cca | gcc | ggc | gcc | gcg | ccg | ctg | 1296 |
| Gln | Tyr | Val | Asn | Tyr | Trp | Phe | Ala | Glu | Pro | Ala | Gly | Ala | Ala | Pro | Leu | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | | |
| cag | tgg | agc | aag | gac | att | tac | aat | ttc | atg | gag | ccg | tac | gtg | agc | aag | 1344 |
| Gln | Trp | Ser | Lys | Asp | Ile | Tyr | Asn | Phe | Met | Glu | Pro | Tyr | Val | Ser | Lys | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | | |
| aac | ccc | agg | cag | gcg | tac | gcc | aac | tac | agg | gac | atc | gac | ctc | ggc | agg | 1392 |
| Asn | Pro | Arg | Gln | Ala | Tyr | Ala | Asn | Tyr | Arg | Asp | Ile | Asp | Leu | Gly | Arg | |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | | |
| aat | gag | gtg | gtg | aac | gac | atc | tca | acc | tac | agc | agc | ggc | aag | gtg | tgg | 1440 |
| Asn | Glu | Val | Val | Asn | Asp | Ile | Ser | Thr | Tyr | Ser | Ser | Gly | Lys | Val | Trp | |
| 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 | |
| ggc | gag | aag | tac | ttc | aag | agc | aac | ttc | caa | agg | ctc | gcc | att | acc | aag | 1488 |
| Gly | Glu | Lys | Tyr | Phe | Lys | Ser | Asn | Phe | Gln | Arg | Leu | Ala | Ile | Thr | Lys | |
| | | | 485 | | | | | 490 | | | | | | 495 | | |
| ggc | aag | gta | gat | cct | cag | gac | tac | ttc | agg | aat | gag | caa | agc | atc | ccg | 1536 |
| Gly | Lys | Val | Asp | Pro | Gln | Asp | Tyr | Phe | Arg | Asn | Glu | Gln | Ser | Ile | Pro | |
| | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | | |
| ccg | ctg | atc | gag | aag | tac | tga | tgcaggac | cct | tgc | atggaga | tttagtgc | gcgt | | | | 1587 |
| Pro | Leu | Ile | Glu | Lys | Tyr | | | | | | | | | | | |
| | | 515 | | | | | | | | | | | | | | |
| ggttggc | ggtt | tcacat | | | | | | | | | | | | | | 1603 |
| <210> | 10 | | | | | | | | | | | | | | | |

- 26 -

<400> 10

Asn Cys Arg Ala Phe Ala Gln Val Leu Leu Phe Phe Ala Leu Ser Cys
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Ala Thr Tyr Ala Pro Val Pro Ala Lys Glu Asp Phe Leu
 20 25 30

Gly Cys Leu Met Lys Glu Ile Pro Ala Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser
 35 40 45

Ser Pro Asp Tyr Pro Thr Val Leu Ala Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg
 50 55 60

Trp Ser Thr Gln Gln Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Thr
 65 70 75 80

Asn Ala Ser His Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Gly
 85 90 95

Val Arg Leu Arg Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser
 100 105 110

Tyr Arg Ser Glu Lys Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys
 115 120 125

Met Arg Ala Val Val Val Asp Gly Tyr Ala Arg Thr Ala Trp Val Glu
 130 135 140

Ser Gly Ala Gln Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Ala Lys Asn Ser
 145 150 155 160

Pro Val Leu Ala Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Ser Ile Gly Val Gly
 165 170 175

Gly Asn Phe Ala Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly
 180 185 190

Ile Ala Ala Glu Asn Val Ile Asp Val Lys Val Val Asp Pro Asp Gly
 195 200 205

Lys Leu Leu Asp Lys Ser Ser Met Ser Ala Asp His Phe Trp Ala Val
 210 215 220

Arg Gly Gly Gly Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ser Trp Gln Val
 225 230 235 240

Gly Glu Lys Tyr Phe Lys Ser Asn Phe Gln Arg Leu Ala Ile Thr Lys
485 490 495

Gly Lys Val Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro
500 505 510

Pro Leu Ile Glu Lys Tyr
515

<210> 11

<211> 1503

<212> DNA

<213> Ph1 p 4

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1503)

<223>

<400> 11
tac ttc ccg ccg ccg gct gct aaa gaa gac ttc ctg ggt tgc ctg gtt 48
Tyr Phe Pro Pro 5 Glu Asp Phe Leu Gly Cys Leu Val
1 10 15
aaa gaa atc ccg ccg cgt ctg ttg tac gcg aaa tcg tcg ccg gcg tat 96
Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr
20 25 30
ccc tca gtc ctg ggg cag acc atc ccg aac tcg agg tgg tcg tcg ccg 144
Pro Ser Val Leu Gly Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro
35 40 45
gac aac gtg aag ccg ctc tac atc atc acc ccc acc aac gtc tcc cac 192
Asp Asn Val Lys Pro Leu Tyr 55 Ile Ile Thr Pro Thr Asn Val Ser His
50 60
atc cag tcc gcc gtg gtg tgc ggc cgc cgc cac agc gtc cgc atc cgc 240
Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Ser Val Arg Ile Arg
65 70 75 80
gtg cgc agc ggc ggg cac gac tac gag ggc ctc tcg tac cgg tct ttg 288
Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser Tyr Arg Ser Leu
85 90 95
cag ccc gag acg ttc gcc gtc gtc gac ctc aac aag atg cgg gcg gtg 336
Gln Pro Glu Thr 100 Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys Met Arg Ala Val
105 110
tgg gtg gac ggc aag gcc cgc acg gcg tgg gtg gac tcc ggc gcg cag 384

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Trp | Val | Asp | Gly | Lys | Ala | Arg | Thr | Ala | Trp | Val | Asp | Ser | Gly | Ala | Gln | |
| | 115 | | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| ctc | ggc | gag | ctc | tac | tac | gcc | atc | tat | aag | gcg | agc | ccc | acg | ctg | gcg | 432 |
| Leu | Gly | Glu | Leu | Tyr | Tyr | Ala | Ile | Tyr | Lys | Ala | Ser | Pro | Thr | Leu | Ala | |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| ttc | ccg | gcc | ggc | gtg | tgc | ccg | acg | atc | gga | gtg | ggc | ggc | aac | ttc | gcg | 480 |
| Phe | Pro | Ala | Gly | Val | Cys | Pro | Thr | Ile | Gly | Val | Gly | Gly | Asn | Phe | Ala | |
| | 145 | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 | |
| ggc | ggc | ggc | ttc | ggc | atg | ctg | ctg | cgc | aag | tac | ggc | atc | gcc | gcg | gag | 528 |
| Gly | Gly | Gly | Phe | Gly | Met | Leu | Leu | Arg | Lys | Tyr | Gly | Ile | Ala | Ala | Glu | |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | |
| aac | gtc | atc | gac | gtg | aag | ctc | gtc | gac | gcc | aac | ggc | aag | ctg | cac | gac | 576 |
| Asn | Val | Ile | Asp | Val | Lys | Leu | Val | Asp | Ala | Asn | Gly | Lys | Leu | His | Asp | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| aag | aag | tcc | atg | ggc | gac | gac | cat | ttc | tgg | gcc | gtc | agg | ggc | ggc | ggg | 624 |
| Lys | Lys | Ser | Met | Gly | Asp | Asp | His | Phe | Trp | Ala | Val | Arg | Gly | Gly | Gly | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| ggc | gag | agc | ttc | ggc | atc | gtg | gtc | gcg | tgg | cag | gtg | aag | ctc | ctg | ccg | 672 |
| Gly | Glu | Ser | Phe | Gly | Ile | Val | Val | Ala | Trp | Gln | Val | Lys | Leu | Leu | Pro | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |
| gtg | ccg | ccc | acc | gtg | aca | ata | ttc | aag | atc | tcc | aag | aca | gtg | agc | gag | 720 |
| Val | Pro | Pro | Thr | Val | Thr | Ile | Phe | Lys | Ile | Ser | Lys | Thr | Val | Ser | Glu | |
| | 225 | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| ggc | gcc | gtg | gac | atc | atc | aac | aag | tgg | caa | gtg | gtc | gcg | ccg | cag | ctt | 768 |
| Gly | Ala | Val | Asp | Ile | Ile | Asn | Lys | Trp | Gln | Val | Val | Ala | Pro | Gln | Leu | |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| ccc | gcc | gac | ctc | atg | atc | cgc | atc | atc | gcg | cag | ggg | ccc | aag | gcc | acg | 816 |
| Pro | Ala | Asp | Leu | Met | Ile | Arg | Ile | Ile | Ala | Gln | Gly | Pro | Lys | Ala | Thr | |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | |
| ttc | gag | gcc | atg | tac | ctc | ggc | acc | tgc | aaa | acc | ctg | acg | ccg | ttg | atg | 864 |
| Phe | Glu | Ala | Met | Tyr | Leu | Gly | Thr | Cys | Lys | Thr | Leu | Thr | Pro | Leu | Met | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | |
| agc | agc | aag | ttc | ccg | gag | ctc | ggc | atg | aac | ccc | tcc | cac | tgc | aac | gag | 912 |
| Ser | Ser | Lys | Phe | Pro | Glu | Leu | Gly | Met | Asn | Pro | Ser | His | Cys | Asn | Glu | |
| | | 290 | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | |
| atg | tca | tgg | atc | cag | tcc | atc | ccc | ttc | gtc | cac | ctc | ggc | cac | agg | gac | 960 |
| Met | Ser | Trp | Ile | Gln | Ser | Ile | Pro | Phe | Val | His | Leu | Gly | His | Arg | Asp | |
| | 305 | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| gcc | ctc | gag | gac | gac | ctc | ctc | aac | cgg | aac | aac | tcc | ttc | aag | ccc | ttc | 1008 |
| Ala | Leu | Glu | Asp | Asp | Leu | Leu | Asn | Arg | Asn | Asn | Ser | Phe | Lys | Pro | Phe | |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | |
| gcc | gaa | tac | aag | tcc | gac | tac | gtc | tac | cag | ccc | ttc | ccc | aag | acc | gtc | 1056 |
| Ala | Glu | Tyr | Lys | Ser | Asp | Tyr | Val | Tyr | Gln | Pro | Phe | Pro | Lys | Thr | Val | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | |
| tgg | gag | cag | atc | ctc | aac | acc | tgg | ctc | gtc | aag | ccc | ggc | gcc | ggg | atc | 1104 |
| Trp | Glu | Gln | Ile | Leu | Asn | Thr | Trp | Leu | Val | Lys | Pro | Gly | Ala | Gly | Ile | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |

- 30 -

atg atc ttc gac ccc tac ggc gcc acc atc agc gcc acc ccg gag tcc 1152
 Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Ser
 370 375 380

gcc acg ccc ttc cct cac cgc aag ggc gtc ctc ttc aac atc cag tac 1200
 Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr
 385 390 395 400

gtc aac tac tgg ttc gcc ccg gga gcc gcc gcc gcg ccc ctc tcg tgg 1248
 Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Ala Ala Ala Pro Leu Ser Trp
 405 410 415

agc aag gac atc tac aac tac atg gag ccc tac gtg agc aag aac ccc 1296
 Ser Lys Asp Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro
 420 425 430

agg cag gcg tac gca aac tac agg gac atc gac ctc ggc agg aac gag 1344
 Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu
 435 440 445

gtg gtc aac gac gtc tcc acc tac gcc agc ggc aag gtc tgg ggc cag 1392
 Val Val Asn Asp Val Ser Thr Tyr Ala Ser Gly Lys Val Trp Gly Gln
 450 455 460

aaa tac ttc aag ggc aac ttc gag agg ctc gcc att acc aag ggc aag 1440
 Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Glu Arg Leu Ala Ile Thr Lys Gly Lys
 465 470 475 480

gtc gat cct acc gac tac ttc agg aac gag cag agc atc ccg ccg ctc 1488
 Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro Pro Leu
 485 490 495

atc aaa aag tac tga 1503
 Ile Lys Lys Tyr
 500

<210> 12

<211> 500

<212> PRT

<213> Phe p 4

<400> 12

Tyr Phe Pro Pro Pro Ala Ala Lys Glu Asp Phe Leu Gly Cys Leu Val
 1 5 10 15

Lys Glu Ile Pro Pro Arg Leu Leu Tyr Ala Lys Ser Ser Pro Ala Tyr
 20 25 30

Pro Ser Val Leu Gly Gln Thr Ile Arg Asn Ser Arg Trp Ser Ser Pro
 35 40 45

Asp Asn Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Thr Asn Val Ser His
 50 55 60

Ile Gln Ser Ala Val Val Cys Gly Arg Arg His Ser Val Arg Ile Arg
 65 70 75 80

Val Arg Ser Gly Gly His Asp Tyr Glu Gly Leu Ser Tyr Arg Ser Leu
 85 90 95

Gln Pro Glu Thr Phe Ala Val Val Asp Leu Asn Lys Met Arg Ala Val
 100 105 110

Trp Val Asp Gly Lys Ala Arg Thr Ala Trp Val Asp Ser Gly Ala Gln
 115 120 125

Leu Gly Glu Leu Tyr Tyr Ala Ile Tyr Lys Ala Ser Pro Thr Leu Ala
 130 135 140

Phe Pro Ala Gly Val Cys Pro Thr Ile Gly Val Gly Gly Asn Phe Ala
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Phe Gly Met Leu Leu Arg Lys Tyr Gly Ile Ala Ala Glu
 165 170 175

Asn Val Ile Asp Val Lys Leu Val Asp Ala Asn Gly Lys Leu His Asp
 180 185 190

Lys Lys Ser Met Gly Asp Asp His Phe Trp Ala Val Arg Gly Gly Gly
 195 200 205

Gly Glu Ser Phe Gly Ile Val Val Ala Trp Gln Val Lys Leu Leu Pro
 210 215 220

Val Pro Pro Thr Val Thr Ile Phe Lys Ile Ser Lys Thr Val Ser Glu
 225 230 235 240

Gly Ala Val Asp Ile Ile Asn Lys Trp Gln Val Val Ala Pro Gln Leu
 245 250 255

Pro Ala Asp Leu Met Ile Arg Ile Ile Ala Gln Gly Pro Lys Ala Thr
 260 265 270

Phe Glu Ala Met Tyr Leu Gly Thr Cys Lys Thr Leu Thr Pro Leu Met
 275 280 285

Ser Ser Lys Phe Pro Glu Leu Gly Met Asn Pro Ser His Cys Asn Glu
 290 295 300

Met Ser Trp Ile Gln Ser Ile Pro Phe Val His Leu Gly His Arg Asp
305 310 315 320

Ala Leu Glu Asp Asp Leu Leu Asn Arg Asn Asn Ser Phe Lys Pro Phe
325 330 335

Ala Glu Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Tyr Gln Pro Phe Pro Lys Thr Val
340 345 350

Trp Glu Gln Ile Leu Asn Thr Trp Leu Val Lys Pro Gly Ala Gly Ile
355 360 365

Met Ile Phe Asp Pro Tyr Gly Ala Thr Ile Ser Ala Thr Pro Glu Ser
370 375 380

Ala Thr Pro Phe Pro His Arg Lys Gly Val Leu Phe Asn Ile Gln Tyr
385 390 395 400

Val Asn Tyr Trp Phe Ala Pro Gly Ala Ala Ala Ala Pro Leu Ser Trp
405 410 415

Ser Lys Asp Ile Tyr Asn Tyr Met Glu Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro
420 425 430

Arg Gln Ala Tyr Ala Asn Tyr Arg Asp Ile Asp Leu Gly Arg Asn Glu
435 440 445

Val Val Asn Asp Val Ser Thr Tyr Ala Ser Gly Lys Val Trp Gly Gln
450 455 460

Lys Tyr Phe Lys Gly Asn Phe Glu Arg Leu Ala Ile Thr Lys Gly Lys
465 470 475 480

Val Asp Pro Thr Asp Tyr Phe Arg Asn Glu Gln Ser Ile Pro Pro Leu
485 490 495

Ile Lys Lys Tyr
500

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

- 33 -

<400> 13

| | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Tyr | Asn | Tyr | Met | Glu | Pro | Tyr | Val | Ser | Lys |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | |

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

<400> 14

| | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Asp | Pro | Thr | Asp | Tyr | Phe | Gly | Asn | Glu | Gln |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | |

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

<400> 15

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Arg | Thr | Ala | Trp | Val | Asp | Ser | Gly | Ala | Gln | Leu | Gly | Glu | Leu | Ser |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |

Tyr

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Dactylus glomerata

<400> 16

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Val | Leu | Phe | Asn | Ile | Gln | Tyr | Val | Asn | Tyr | Trp | Phe | Ala | Pro |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 |

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 17

Lys Thr Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro
1 5 10

<210> 18

<211> 22

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 18

Lys Gln Val Glu Arg Asp Phe Leu Thr Ser Leu Thr Lys Asp Ile Pro
1 5 10 15

Gln Leu Tyr Leu Lys Ser
20

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 19

Thr Val Lys Pro Leu Tyr Ile Ile Thr Pro Ile Thr Ala Ala Met Ile
1 5 10 15

<210> 20

<211> 24

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 20

- 35 -

Leu Arg Lys Tyr Gly Thr Ala Ala Asp Asn Val Ile Asp Ala Lys Val
1 5 10 15

Val Asp Ala Gln Gly Arg Leu Leu
20

<210> 21

<211> 14

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 21

Lys Trp Gln Thr Val Ala Pro Ala Leu Pro Asp Pro Asn Met
1 5 10

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 22

Val Thr Trp Ile Glu Ser Val Pro Tyr Ile Pro Met Gly Asp Lys
1 5 10 15

<210> 23

<211> 19

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> undetermined amino acid

<400> 23

- 36 -

Gly Thr Val Arg Asp Leu Leu Xaa Arg Thr Ser Asn Ile Lys Ala Phe
1 5 10 15

Gly Lys Tyr

<210> 24

<211> 23

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 24

Thr Ser Asn Ile Lys Ala Phe Gly Lys Tyr Lys Ser Asp Tyr Val Leu
1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Lys Lys Ser
20

<210> 25

<211> 13

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 25

Tyr Arg Asp Leu Asp Leu Gly Val Asn Gln Val Val Gly
1 5 10

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 26

Ser Ala Thr Pro Pro Thr His Arg Ser Gly Val Leu Phe Asn Ile
1 5 10 15

<210> 27

<211> 36

<212> PRT

<213> Cynodon dactylon

<400> 27

Ala Ala Ala Ala Leu Pro Thr Gln Val Thr Arg Asp Ile Tyr Ala Phe
1 5 10 15

Met Thr Pro Tyr Val Ser Lys Asn Pro Arg Gln Ala Tyr Val Asn Tyr
20 25 30

Arg Asp Leu Asp
35

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

<213> Lolium perenne

<400> 28

Phe Leu Glu Pro Val Leu Gly Leu Ile Phe Pro Ala Gly Val
1 5 10

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Lolium perenne

<400> 29

Gly Leu Ile Glu Phe Pro Ala Gly Val
1 5

<210> 30

<211> 22

<212> DNA

<213> Sec c 4

<400> 30
ggctcccggg gcgaaccagt ag 22

<210> 31

<211> 23

<212> DNA

<213> Sec c 4

<400> 31
accaacgcct cccacatcca gtc 23

<210> 32

<211> 49

<212> DNA

<213> Sec c 4

<400> 32
gataagcttc tcgagtgatt agtacttttt gatcagcggc gggatgctc 49

<210> 33

<211> 23

<212> DNA

<213> Sec c 4

<400> 33
gctctcgatc ggctacaatg gcg 23

<210> 34

<211> 25

<212> DNA

<213> Sec c 4

<400> 34
cacgcactac aaatctccat gcaag 25

<210> 35

<211> 30

<212> DNA

<213> Sec c 4

<400> 35

catgcttgat ccttattcta ctagttgggc

30

<210> 36

<211> 30

<212> DNA

<213> Sec c 4

<400> 36

tacgcacgat ccttattcta ctagttgggc

30

<210> 37

<211> 30

<212> DNA

<213> Hor v 4

<400> 37

gccttgctct gccaccacgc cgccgccacc

30

<210> 38

<211> 23

<212> DNA

<213> Hor v 4

<400> 38

gctctcgatc ggctacaatg gcg

23

<210> 39

<211> 25

<212> DNA

<213> Hor v 4

<400> 39

cacgcactac aaatctccat gcaag

25

<210> 40

<211> 30

<212> DNA

<213> Hor v 4

<400> 40

catgcttgat ccttattcta ctagttgggc

30

<210> 41

<211> 23

<212> DNA

<213> Tri a 4

<400> 41

cacgcactaa atctccatgc aag

23

<210> 42

<211> 30

<212> DNA

<213> Tri a 4

<400> 42

tacgcacgat ccttattcta ctagttgggc

30

<210> 43

<211> 23

<212> DNA

<213> Tri a 4

<400> 43

aagctctatc gcctacaatg gcg

23

<210> 44

<211> 25

<212> DNA

<213> Tri a 4

<400> 44

ggtgctcctc ttctgcgcct tgtcc

25